

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. R. Buchholz

ÜBER DEN EINFLUSS DER ADRENALEKTOMIE
AUF STOFFWECHSEL (ENZYME UND METABOLITE)
UND MORPHOLOGIE JUVENILER RATTENOVARIEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

DORIS KASTNER-SETTNIK

aus Gleiwitz

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg/Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. R. Buchholz

ÜBER DEN EINFLUSS DER ADRENALEKTOMIE
AUF STOFFWECHSEL (ENZYME UND METABOLITE)
UND MORPHOLOGIE JUVENILER RATTENOVARIEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

DORIS KASTNER-SETTNIK

aus Gleiwitz

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 11. Juni 1976

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen

Referent: Dr. med. habil. E. Stähler

Correferent: Prof. Dr. med. A. Uhlarik

Über den Einfluß der Adrenalektomie auf Stoffwechsel (Enzyme und Metabo- lite) und Morphologie juveniler Rat- ovarien.

I. Zusammenfassung

II. Einleitung

1. Aufgabenstellung

2. Material und Methode

3. Ergebnisse und Diskussion

III. Ergebnisse

1. Körpergewicht und Futteraufnahme

2. Wasserhaushalt

3. Energiehaushalt und Energieumsatz

4. Proteinhaushalt

5. Fettstoffwechsel

6. Kohlenhydratstoffwechsel

7. Stickstoffhaushalt und Stickstoffumsatz

8. Stickstoffhaushalt und Stickstoffumsatz

9. Stickstoffhaushalt und Stickstoffumsatz

IV. Zusammenfassung

V. Literaturverzeichnis

1. Zusammenfassung

Inhaltsverzeichnis

Seite

A	<u>Einleitung</u>	1
B	<u>Tiermaterial und Arbeitsmethodik</u>	4
C	<u>Ergebnisteil</u>	
	I. Ovargewichte	8
	II. Substrate	
	1. ATP/ADP	10
	2. Glucose	13
	3. Pyruvat/Lactat	15
	III. Enzyme	
	1. Wasserstoffübertragende Enzyme	17
	2. GOT/GPT	19
	3. Glutamat-Dehydrogenase	21
	4. Aldolase	22
	5. Pyruvat-Kinase	23
	6. Alkalische Phosphatase	24
	7. Leuzin-Aminopeptidase	27
	8. Sorbit-Dehydrogenase	28
	9. Cholinesterase	29
D	<u>Histologie</u>	30
E	<u>Diskussionsteil</u>	
	I. Substrate	33

II. Enzyme	
1. Wasserstoffübertragende Enzyme	37
2. GOT/GPT/GLDH	41
3. Aldolase und Pyruvat-Kinase	43
4. Alkalische Phosphatase	45
5. Leuzin-Aminopeptidase	47
6. Sorbit-Dehydrogenase	48
7. Cholinesterase	49
F <u>Zusammenfassung</u>	50
Benutzte Chemikalien und Hormone	52
Abkürzungen	53
G <u>Literaturverzeichnis</u>	54
<u>Anhang</u>	
14 grafische Darstellungen	
2 schwarz-weiß Fotos	
5 Mikrofotos in HE-Färbung	

A Einleitung

Schon entwicklungsgeschichtlich lassen sich zwischen Ovar und Nebenniere Gemeinsamkeiten nachweisen (Stark 1965, Goldzieher 1968). Beide Organe entwickeln sich aus dem 3. Keimblatt, dem Mesoderm, womit das anatomische Substrat einer funktionellen Übereinstimmung vorgegeben ist. Die Forschung der letzten Jahrzehnte hat das Wissen um die Wirkungsweisen der Nebennierenrindenhormone im Stoffwechsel ungeheuer bereichert und sie hat auch die Vermutung früherer Untersuchungsergebnisse bestätigen können, daß die Nebennierenrinde regulativ auf reproduktive Funktionen wirkt. So scheint es heute als gesichert, daß die NNR eine wichtige Rolle bei der Auslösung der Gonadotropinsekretion in der Pubertät spielt (Lauritzen 1970). In der NNR gebildete Steroide aus der Gruppe der Androgene, wie Androstendion und Dehydroepiandrosteron wirken als Reifungsfaktoren auf die hypothalamischen gonadotropinfreisetzenden Zentren.

Sie führen somit zu einer Freisetzung sowohl von FSH-RF als auch von LH-RF, wie man bei präpubertären Tieren feststellen konnte (Ramirez & Sawyer 1966, Corbin & Daniels 1967, Smith & Davidson 1968).

Und auch bei erwachsenen Ratten konnte eine Beteiligung der NNR Steroide beim Freisetzungsmechanismus der Gonadotropine nachgewiesen werden (Lawton 1970).

Für das Ingangkommen sowie für die zyklische Steuerung generativer Funktionen ist also die funktionelle Integrität der NNR eine unabdingbare Voraussetzung.

Werden juvenile Ratten z.B. adrenaletomiert, so kommen Zyklen mit Follikelreifung und nachfolgender Ovulation praktisch nicht vor (Hagino 1970).

In zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die NNR Steroide und auch das übergeordnete adrenocorticotrope Hormon (ACTH) auf

das Ovar teils stimulierend, teils hemmend einwirken kann.

So läßt sich bei Ratten, die mit PMS vorbehandelt werden, mit Desoxycorticosteron und Corticosteron eine Ovulation auslösen, dagegen nicht mit Cortisol oder Cortison (McCormack & Meyer 1965, Ying & Meyer 1972).

Fehlen die NNR Steroide im Stoffwechsel, z.B. nach Adrenalektomie, kommt es beim Kaninchen zu einer Degeneration der Ovarien (Telko 1971).

Und auch der Mensch ist bei dem von ADDISON zuerst beschriebenen Krankheitsbild nicht mehr in der Lage, dem Lebensstreß zu begegnen, reproduktive Funktionen gehen als erste verloren.

Gibt man adrenalektomierten Mäusen noch zusätzlich ACTH, so hemmt dieses zusätzlich die Funktionen der Ovarien. Das Gewicht reduziert sich von 10 auf 4 mg, während die Adrenalektomie das Ovargewicht kaum verändert (Pasley & Christiansen 1972). Bei erwachsenen Ratten kommt es durch Entfernen der Nebenniere zu einer Unterbrechung der circadianen Rhythmen im FSH Gehalt der Hypophyse, Ovar- und Uterusgewichte nehmen ab (Hagino 1970).

Werden adrenalektomierte Menschen mit Cortisol substituiert, können reguläre biphasische Zyklen mit Follikelreifung und Corpus luteum Bildung wieder auftreten (Abraham & Chakmakjian 1973).

Aufgrund seiner klinischen Beobachtungen hatte schon Glynn 1911 auf die Zusammenhänge zwischen Nebenniere und reproduktiven Funktionen hingewiesen. Heute liegen genügend Daten vor, die beweisen, daß Cortison beim Menschen sowohl einen stimulierenden Effekt auf die Ausreifung von Oocyten zu Tertiärfollikeln hat, als auch einen ovulationsauslösenden Effekt auf die Ovarien (Jefferies 1966). Sogar das ACTH selbst soll ovulationsauslösende Effekte bewirken (Van Tienhoven 1961). In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Selye (1950) und Edgren (1964) über den Rückgang des Ovargewichtes nach Adrenalektomie von Bedeutung. Sie sind der Ansicht, daß die vermehrte ACTH-Ausschüttung nach Adrenalektomie auf Kosten der beiden gonadotropen Hormone FSH

und LH geht.

Goldzieher (1968) kommt in seinen Experimenten zu dem gleichen Ergebnis. Die Steroidbiosynthese beider Organe läuft bis zum Progesteron übereinstimmend. Dieses ist sowohl Ausgangssubstrat für die Corticoide in der Nebenniere als auch für Androgene und Östrogene im Ovar.

So liegt die Folgerung nahe, in wie weit Ovar und Nebenniere kompensatorische Funktionen übernehmen können. Bei einer Tierspezies und zwar bei dem 13-lined squirrel konnte dieser Mechanismus nach AE in der Tat bewiesen werden (Goldzieher 1968).

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, durch die Bestimmung einiger wichtiger Stoffwechselmetabolite und Schlüsselenzyme in den Ovarien adrenaletomierter Ratten, eine zusätzliche Information über die Beeinflussung des Ovarstoffwechsels durch die Nebenniere zu erhalten.

Da als Kontrollen unbehandelte und scheinoperierte Tiere verwendet wurden, war zu erwarten, daß der Effekt der Adrenaletomie näher zu differenzieren war.

B Tiermaterial und Arbeitsmethodik

Als Versuchstiere wurden 21 Tage alte weibliche Sprague-Dawley Ratten gewählt.

Um eine möglichst breite Aussage über den Stoffwechsel des Rattenovars nach Adrenalektomie zu erhalten, wurden 7 verschiedene Tiergruppen aufgestellt.

Die Einteilung wurde wie folgt vorgenommen:

- I. Gruppe Adrenalektomie
- II. Gruppe Adrenalektomie + Stimulation
- III. Gruppe Adrenalektomie + Stimulation + Prednisolonsubstitution
- IV. Gruppe Scheinoperation
- V. Gruppe Scheinoperation + Stimulation
- VI. Gruppe Kontrollgruppe
- VII. Gruppe Kontrollgruppe + Stimulation

Die Ratten wurden am 21. Lebenstag beidseitig adrenalectomiert bzw. scheinoperiert.

Unter Scheinoperation wurde die beidseitige Eröffnung des Peritoneums in Höhe des linken und rechten Nierenpols definiert.

Die operativen Eingriffe an den Ratten erfolgten im kurzen Ätherrausch. Nach dem Eingriff wurde pro Versuchstier 0,03 g Chloramphenicol (in 0,9% NaCl-Lösung) s.c. appliziert. Dazu erhielt jedes Tier 1 ml Sterofundin R s.c. Der Operationsschnitt wurde mit Catgut Nr. 0 vernäht. Die Ratten zeigten ca. 10 min nach Beendigung des Eingriffs normales Verhalten. Um die Letalität der Versuchstiere zu senken, wurden an den zwei darauffolgenden Tagen pro Versuchstier der Gruppen I bis V je 1 ml 0,9% NaCl-Lösung und 1 ml Sterofundin R s.c. gespritzt.

Die Stimulation mit Serumgonadotropin PMS (Anteron) erfolgte bei den Versuchstieren der Gruppen II, III und V jeweils am Operationstag (Alter der Ratten 21 Tage).

Pro Versuchstier wurden 50 IE Anteron in 0.9% NaCl-Lösung s.c. appliziert. Die Stimulation mit Choriongonadotropin HCG (Primogonyl) erfolgte 60 Stunden nach der Verabreichung von Anteron. Pro Versuchstier wurden 25 IE Primogonyl in 0.9% NaCl-Lösung s.c. gespritzt. Bei den Tieren der Versuchsgruppe III wurde die Substitution mit Prednisolon 21 hemisuccinat Natrium (Solu Decortin) mit 0.03 mg pro 70 g Rattengewicht/die in 0.9% NaCl-Lösung durchgeführt.

Die Verabreichung des Prednisolons erfolgte alle 24 Stunden zur gleichen Tageszeit.

Die Tiere hatten freien Zugang zu Altramin. Die Gruppen I, II und III erhielten als Flüssigkeit 0.9% NaCl-Lösung, die Gruppen IV bis VII normales Wasser.

Die Tiere wurden nach Kontrollgruppen getrennt in Drahtkästen bei gleicher Raumtemperatur von 22°C gehalten.

Um ein relatives Wohlbefinden der Ratten zu gewährleisten, wurden möglichst große Gruppen von 20 bis 25 Tieren gebildet. Die Tiere wurden außerdem einem konstanten Tages- und Nachtrhythmus von 14 zu 10 Stunden und gleichen Lichtverhältnissen während des Tagesrhythmus ausgesetzt.

192 Stunden nach Adrenalektomie bzw. Scheinoperation wurden die Ratten kurz im Äthernarkose betäubt. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden die Ovarien entnommen, präpariert und sofort zur Enzymbestimmung in den eisgekühlten EDTA/Phosphat Puffer (pH 7.6) und zur Substratbestimmung in flüssigen Stickstoff gelegt.

Bei den Gruppen I bis III wurde durch Betrachtung der beiden oberen Nierenpole Gewißheit über die vollständig ausgeführte Adrenalektomie erzielt.

Das Wägen der Ovarien erfolgte zur Enzymbestimmung in mit EDTA/Phosphat Puffer vorgewogenen Gläschen. Die Ovarien, die zur Substratbestimmung verwendet wurden, wurden nach dem Wägen in 0.6N Perchlorsäure (HClO_4) gegeben. Nach dem Wägen wurden die Ovarien unter Eiskühlung bei den Enzymmessungen in EDTA/Phosphat Puffer und bei den

Substratmessungen in 0.6n Perchlorsäure mit einem Ultraturrax-Homogenisator bei Eiskühlung 3 x 30 sec homogenisiert und anschließend wurde das entstandene Homogenat nochmals mit Ultraschall behandelt, wobei auch subzelluläre Strukturen zerstört wurden.

Anschließend wurde das Homogenat in einer Kühlzentrifuge bei 40 000 x g zentrifugiert. Der klare Überstand wurde dekantiert und als Extrakt für die Enzymbestimmung verwendet. Der Extrakt wurde zur Bestimmung der Enzym- bzw. Substratkonzentrationen im Eppendorf Photometer eingesetzt, die Reaktionsgeschwindigkeit wurde durch einen Extinktionsschreiber aufgezeichnet.

Die Enzym- und Substratmessungen erfolgten mit den Biochemica Testkombinationen der Fa. Boehringer/Mannheim. Der EDTA/Phosphat Puffer wurde selbst hergestellt.

In 200 ml Aqua dest. wurden 2.72 g KH_2PO_4 = 100 mM, 2.82 g Na_2HPO_4 = 100 mM und 148.88 g EDTA = 2 mM gelöst (pH 7.6).

Alle Chemikalien für den Puffer sowie die 0.6n Perchlorsäure wurden von der Fa. Merck/Darmstadt verwendet und waren reinst p.A.

Wenn nicht anders angegeben, erfolgten die Tests bei einer Temperatur von 25°C, die Wellenlänge betrug 366 nm bzw. 405 nm, die gewählte Schichtdicke der Küvetten 1 cm. Das Prinzip der Gesamtextraktion besteht in einer Freisetzung löslicher Proteine durch mechanische Einwirkung auf die Zellen, wobei die Lokalisation der verschiedenen Enzyme in den verschiedenen Zellräumen im Gegensatz zur fraktionierten Extraktion unberücksichtigt bleibt. Als Bezugssystem für die Enzymuntersuchungen wurde das Frischgewicht des Ovars gewählt.

Der Enzymaktivitätsbestimmung im optischen Test liegt eine photometrisch erfaßbare Veränderung der Lichtabsorption zugrunde, wie sie bei der reversiblen Reduktion der Nicotinadenindinukleotide auftritt.

Prinzip und Meßmethode wurden von Warburg entdeckt und

beschrieben (Otto Warburg 1938).

Zum Studium der Stoffwechselaktivitäten sowie zum Auf- und Abbau wichtiger Substrate hat sich die Bestimmung von Enzym-aktivitäten im Gewebe hervorragend bewährt. Die bei der enzymatischen Reaktion beteiligten Co-Enzyme, vorallem NAD und NADP, die teils hydriert und teils dehydriert nach dem Reaktionsablauf dem Stoffwechsel zur Verfügung stehen, sind in endokrin aktiven Organen von ganz besonderem Interesse, da sie am Steroidstoffwechsel bereiligt sind.

Außerdem konnte in zahlreichen Untersuchungen an den verschiedenen Geweben gezeigt werden, daß eine auf die Funktion ausgerichtete Spezialisierung ihren Ausdruck in der Differenzierung von Enzymmustern findet (Pette & Bücher 1963).

Zur histologischen Untersuchung wurden von den Gruppen I, II, IV und V sowie von nicht stimulierten Kontrolltieren Ovarien in 3% Formalin gelagert, im Paraffinblock eingebettet und in HE-Färbung gefärbt. Die Veränderungen im Stoffwechsel, die unter der Adrenalektomie, der Scheinoperation und der Stimulation mit PMS/HCG erfolgten, sind ebenfalls histologisch festgehalten worden, s. Abb. 14 bis Abb. 18.

C Ergebnisteil

I. Ovargewichte

Abb. 1 zeigt die Ovargewichte direkt nach Herausnahme aus der Bauchhöhle.

Wie zu sehen ist, bewirkte die Stimulation mit PMS/HCG einen signifikanten Anstieg der Ovargewichte bei allen Gruppen, wobei der Gewichtsanstieg etwa um den Faktor 7.8 bis 8.5 erfolgte.

Bei den nicht stimulierten Tiergruppen kommt es bei scheinoperierten und den adrenaletomierten Tieren zu einem Gewichtsabfall, wobei sich die Gewichte der Ovarien der adrenaletomierten Tiere zu den Gewichten der Ovarien der Kontrolltiere unterscheiden.

Fast gleiche Verhältnisse fanden sich bei den Gruppen der stimulierten Tiere.

Auch hier fand sich ein Gewichtsverlust der Ovarien, wobei die Ovargewichte der adrenaletomierten Tiere deutlich geringer als bei den Kontrolltieren und der Gruppe der scheinoperierten Tiere waren.

Werden die adrenaletomierten Tiere mit Solu Decortin (0.03 mg pro 70 g Rattengewicht/die) substituiert, kommt es wieder zu einem Anstieg der Ovargewichte, der sich aber nicht signifikant zu den Ovargewichten der nur adrenaletomierten Tiere unterscheidet.

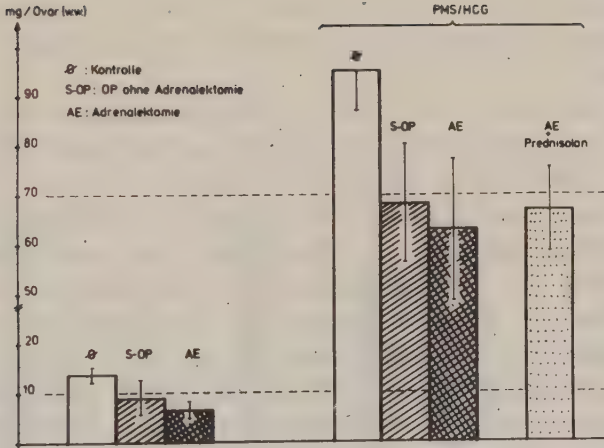


Abb. 1 Ovargewichte

Von 7 Versuchsgruppen sind die jeweiligen Mittelwerte der Ovargewichte dargestellt.

II. Substrate

1. ATP/ADP

Um einen weiteren Einblick in den metabolischen Zustand der Ovarien zu bekommen, wurden die energiereichen Phosphate bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 dargestellt.

Die Stimulation führte sowohl bei den Kontrolltieren und den nur adrenaletomierten Tieren zu einem Anstieg des ATP Gehaltes in den Rattenovarien.

Bei den scheinoperierten und den mit Prednisolon substituierten Tieren führte die Stimulation jedoch zu einem Abfall des ATP Gehaltes, wobei aber durch die Substitution ein geringer Anstieg gegenüber den scheinoperierten Tieren zu verzeichnen ist.

In der Gruppe der nicht stimulierten Tiere fällt ein deutlicher Abfall des ATP Gehaltes bei den scheinoperierten Tieren gegenüber den Kontrollen und den adrenaletomierten Tieren auf. Der ATP Gehalt wurde auch hier wie bei den scheinoperierten stimulierten Tieren erniedrigt.

Der ADP Gehalt nimmt in der Gruppe der nicht stimulierten Ratten bei den adrenaletomierten Tieren zu. Die gleiche Verhaltensweise des ADP Gehaltes ist bei den adrenaletomierten stimulierten Tieren zu beobachten. Wurden die stimulierten adrenaletomierten Tiere mit Prednisolon substituiert, so fiel auch hier der ADP Gehalt wieder ab.

Aus zahlreichen Untersuchungen weiß man, daß die Regulation des Stoffwechsels weniger von den absoluten Konzentrationen der Stoffwechselmetabolite, als durch ihre Relation zueinander gekennzeichnet ist.

So sind z.B. Lactat/Pyruvat und ATP/ADP empfindliche Indikatoren für einen funktionellen Stoffwechsel, wobei

ein Anstieg des Lactat/Pyruvat Quotienten bei gleichzeitigem Abfall des ATP/ADP Quotienten eine schlechte Stoffwechsellage dokumentiert.

In diesem Zusammenhang ist es wichtig, daß der ATP/ADP Quotient bei den scheinoperierten nicht stimulierten Tieren von 3.7 auf 2.2 und bei den scheinoperierten stimulierten Tieren von 5.4 auf 2.2 im Vergleich zu den jeweiligen Kontrolltieren abfällt.

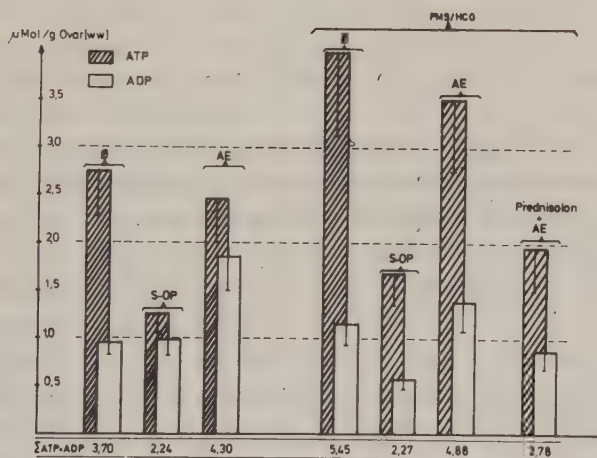


Abb. 2 ATP/ADP Gehalt in Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

nicht stimuliert				PMS/HCG		
Ø	S-OP	AE		Ø	S-OP	AE
-2,9	-1,3	-1,3		-3,3	-2,8	-2,6

Tab. I

ATP/ADP Quotienten

Tabelle 1 Die Quotienten ATP/ADP in den Ovarien
adrenalektomierter, scheinoperierter
und unbehandelter Kontrolltiere.

2. Glucose

Von mehreren Autoren konnte gezeigt werden, daß nach einer gonadotropen Stimulation der Glucosegehalt im Ovargewebe ansteigt (Ahren, Hamberger, Rubinstein 1969), was einmal auf einer vermehrten Glucoseaufnahme in das Gewebe zum anderen auf einer erhöhten Glykogenolyse beruht .

Wie auf Abb. 4 zu sehen ist, bewirkt die Adrenalektomie keine Änderung der Glucosekonzentration in den Rattenovarien gegenüber den Kontrolltieren.

Die Scheinoperation hingegen führt zu einem deutlichen Anstieg der Glucosekonzentration in den Ovarien, was möglicherweise auf eine vermehrte Glucocorticoidausschüttung, die durch den Operationsstreß bedingt ist, zurückzuführen ist.

Durch Stimulation mit PMS/HCG hingegen fiel bei den scheinoperierten Tieren ein Abfall des Glucosegehaltes in den Ovarien auf. Lediglich bei den Kontrolltieren kam es durch die Stimulation zu einem leichten Anstieg des Glucosegehaltes im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen.

Wurden die adrenaletomierten Tiere mit 0,03 mg Prednisolon pro 70 g Rattengewicht/die substituiert, so kam es wieder zu einem geringen Glucoseanstieg in den Ovarien.

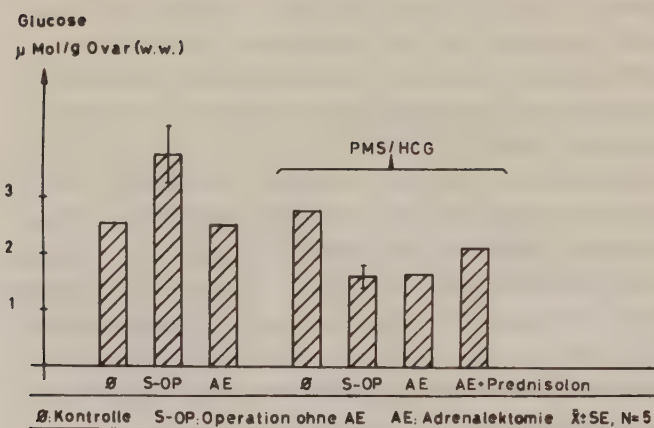


Abb. 4 Glucosegehalt in Ovarien adrenalectomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

3. Pyruvat/Lactat

Sowohl bei den nicht stimulierten als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren führte die Scheinoperation und die tatsächliche Adrenalektomie zu einem Lactatanstieg in den Ovarien im Vergleich zu den Kontrollen. Dabei steigt der Lactatgehalt bei den scheinoperierten Tieren im Vergleich zu den Kontrollen um den Faktor 8.3 und bei den scheinoperierten stimulierten Tieren im Vergleich zu den stimulierten Kontrollen um den Faktor 3.2.

Bei den nicht stimulierten Gruppen bewirkte die Scheinoperation sowie die Adrenalektomie einen Anstieg des Pyruvatgehaltes, wobei sich aber der Pyruvatgehalt bei den adrenalektomierten Tieren signifikant zu den Kontrolltieren unterscheidet.

Bei den Gruppen der stimulierten Tiere war diese Tendenz nicht vorhanden. Der Pyruvatgehalt änderte sich nicht signifikant.

Besonders interessant ist, daß allein der Operationsstress bei den scheinoperierten Tieren den höchsten Lactatanstieg in den Ovarien aufweist.

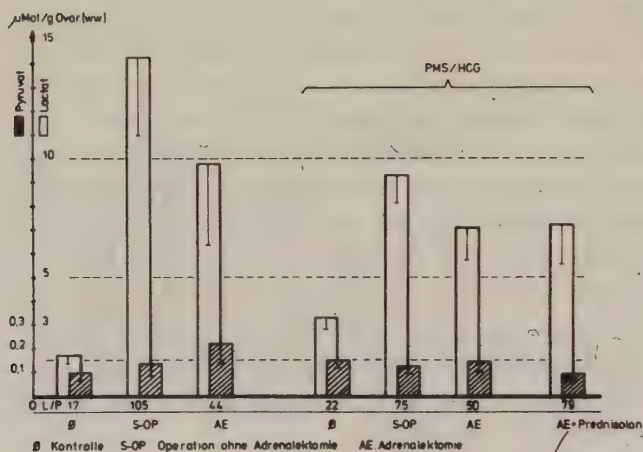


Abb. 3 Pyruvat- und Lactatgehalt in Ovarien adrenalectomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

III. Enzyme

1. Wasserstoffübertragende Enzyme

In der Abb. 5 sind die Aktivitäten einiger Wasserstoffübertragender Enzyme dargestellt, die als Co-Faktoren NAD und NADP benötigen.

Wie bekannt ist, werden aber NADH und NADPH bei der ovariellen Steroidsynthese benötigt.

Die Stimulation mit PMS/HCG bewirkt einen Aktivitätsanstieg aller 4 genannten Enzyme, dieses ist auch schon von anderen Autoren (McKerns 1965) bewiesen worden.

Bei den nicht stimulierten Tieren führten die Scheinoperation und die Adrenalektomie zu einem Aktivitätsverlust aller Enzyme, wobei aber ein spezifischer Abfall nur bei adrenalektomierten Tieren gefunden wurde.

Bei den PMS/HCG behandelten Tieren kam es sowohl bei den scheinoperierten Tieren und den adrenalektomierten Tieren zu einem Abfall der Aktivitäten der MDH, LDH und G-6PDH im Vergleich zu den Kontrolltieren, wobei die LDH bei den adrenalektomierten Tieren den größten Aktivitätsverlust aufwies, der aber nach Substitution mit Prednison voll aufhebbar war und den Werten der scheinoperierten Tieren entsprach.

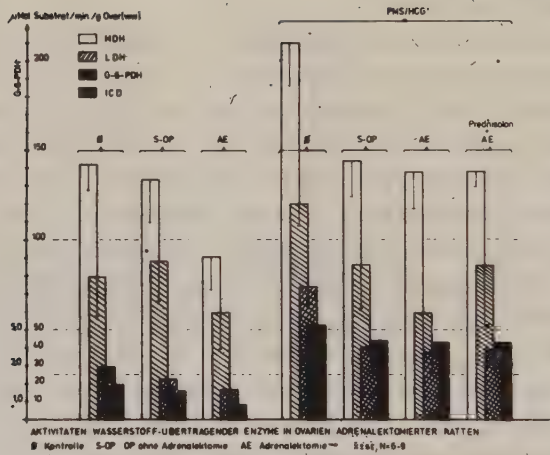


Abb. 5 Wasserstoffübertragende Enzyme
MDH, LDH, G-6-PDH und ICD Konzentrationen
in Ovarien adrenaletomierter, schein-
operierter und unbehandelter Ratten mit
und ohne Stimulation

2. GOT/GPT

Die GOT und die GPT sind Enzyme, die in allen Zellen vorkommen, wobei aber die GPT ein rein zytoplasmatisches Enzym ist, während die GOT sowohl im Plasma als auch in den Mitochondrien zu finden ist.

Wie bereits von Karlson (1961) berichtet worden ist, führt die vermehrte Glucocorticoidausschüttung zu einem vermehrten Anstieg der GPT. Bei den Gruppen der adrenaletomierten Tiere trat jeweils ein Aktivitätsverlust der GPT um 0,5 - 0,6 Mol/Substrat/min/g Ovar w.w. ein. Wurden die Tiere mit Solu Decortin 0,03 mg pro 70 g Rattengewicht/die substituiert, kommt es wieder zu einem Aktivitätsanstieg der GPT im Vergleich zu der nur adrenaletomierten und mit PMS/HCG stimulierten Gruppe.

Ein signifikanter Unterschied der GPT Aktivität zwischen den Gruppen der Kontrolltiere und den scheinoperierten Tiere konnte bei den nicht stimulierten Versuchsgruppen und den mit PMS/HCG behandelten Tieren nicht erreicht werden.

Bereits von anderen Autoren (Eckstein & Lavi 1964) wurde die Aktivitätszunahme der GPT durch Stimulation gonadotrop wirkender Hormone beschrieben. In Abb. 6 kommt die Wirkung der Stimulation mit PMS/HCG deutlich zum Ausdruck, besonders nimmt die Aktivität der GOT nach Stimulation zu.

Der Operationsstreß, der mit einer vermehrten Glucocorticoidausschüttung einhergeht, führte zu einer deutlichen Aktivierung der GOT im Vergleich zu den Kontrolltieren. in der Gruppe der nicht stimulierten Tiere.

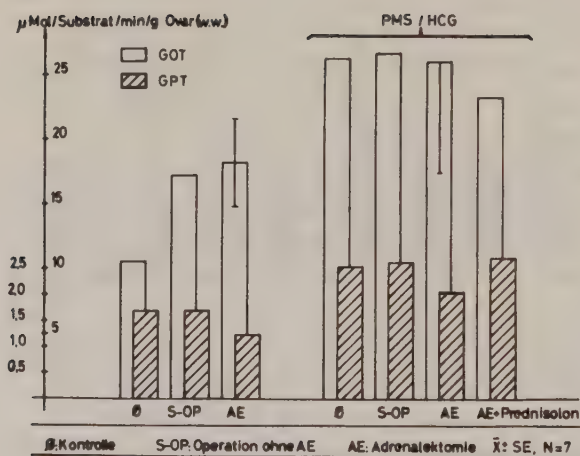


Abb. 6 GOT/GPT Aktivitäten in den Ovarien adrenalectomierter, Scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

3. Glutamat-Dehydrogenase

Auch hier bewirkte die Stimulation bei allen drei Gruppen einen leichten Aktivitätsanstieg gegenüber den nicht stimulierten Tieren, der bei den adrenalectomierten Tieren signifikant war. Bei den nicht stimulierten Tieren brachte die Scheinoperation und Adrenalectomie allein keinen deutlichen Aktivitätsanstieg im Vergleich zu den Kontrolltieren.

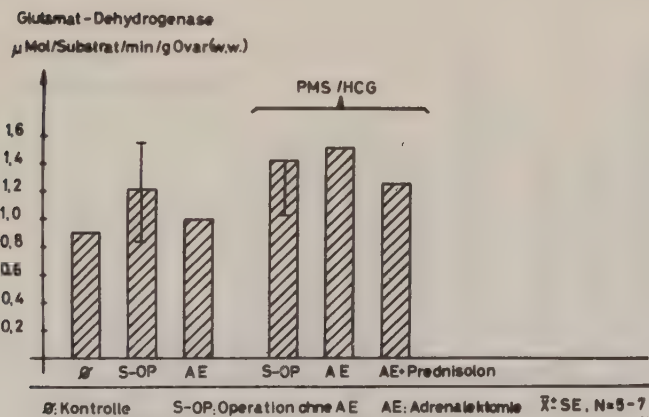


Abb. 7 Glutamat-Dehydrogenase Aktivitäten in den Ovarien adrenalectomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

4. Aldolase

Die Aldolase erfährt durch den Operationsstress bei den scheinoperierten und den adrenaletomierten Tieren zu einem Aktivitätsverlust wie auf Abb. 8 ersichtlich ist. Dieser Effekt ist sowohl bei den mit PMS/HCG als auch bei den nicht behandelten Tieren deutlich zu sehen. Die Aldolase entspricht in ihrem Verhalten den Änderungen wie bei der Pyruvat-Kinase angegeben.

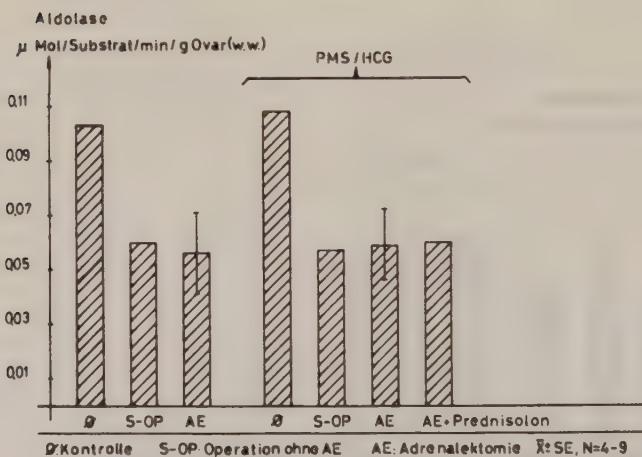


Abb. 8 Aldolase Aktivitäten in den Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

5. Pyruvat-Kinase

Bei der Pyruvat-Kinase konnte sowohl durch die Scheinoperation als auch durch die Adrenalectomie ein Aktivitätsverlust im Rattenovar festgestellt werden, wobei der Effekt sowohl bei den mit PMS/HCG als auch bei den nicht behandelten Tieren zu finden war.

Eine signifikante Beeinflussung durch die Stimulation war nicht nachweisbar. Die Stimulation führt zu keinem wesentlichen Aktivitätsanstieg.

Signifikante Unterschiede zwischen den scheinoperierten und den nur adrenalectomierten Tieren bestehen nicht.

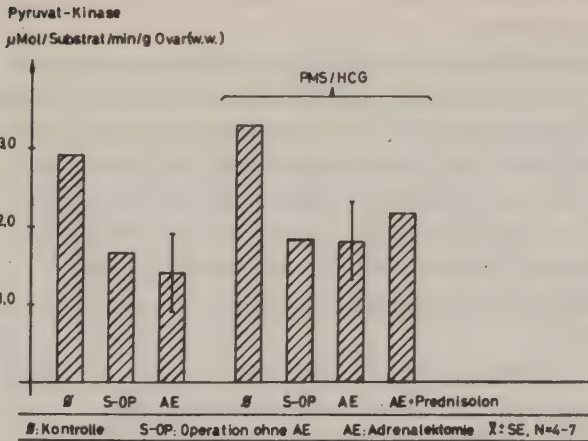


Abb. 9 Pyruvat-Kinase Aktivitäten in den Ovarien adrenalectomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

6. Alkalische Phosphatase

Das Verhalten der AP ist aus der Abb. 10 ersichtlich. In der Tat fanden sich wie auf der Abb. 10 zu sehen ist, eindrucksvolle Änderungen zwischen den einzelnen Versuchsgruppen. Wie auch bei anderen Enzymen und bei einigen Substraten führt auch hier nur der Operationsstreß bei den scheinoperierten Tieren zu einem deutlichen Anstieg der AP, der bei den stimulierten Tieren um den Faktor 2.5 und bei den nicht stimulierten Tieren um den Faktor 3.7 im Vergleich zu den jeweiligen Kontrolltieren liegt.

Der Aktivitätsanstieg der AP ist, wie man annehmen darf, auf die maximale postoperative Glucocorticoidausschüttung zurückzuführen.

Bei den adrenaletomierten Tieren nahm die Aktivität in den Ovarien signifikant im Vergleich zu den Kontrolltieren ab. Erfolgte nach der Adrenalectomie eine Substitution mit 0.03 mg Prednisolon pro 70 g Rattengewicht/die, so stieg auch die Aktivität der AP wieder signifikant an und erreichte annähernd die Werte der scheinoperierten Tiere mit und ohne Stimulation.

Die Glucocorticoide können also auch die ovarielle AP beeinflussen.

Die AP ist ein heterogenes Enzym, das in einer hitze-labilen und einer hitzestabilen Form vorliegt.

Wie zahlreiche postoperative Kontrollen bei den Tieren der Gruppen I bis III bewiesen, wurde die Adrenalectomie vollständig durchgeführt. s. Abb. 10a und Abb. 10b.

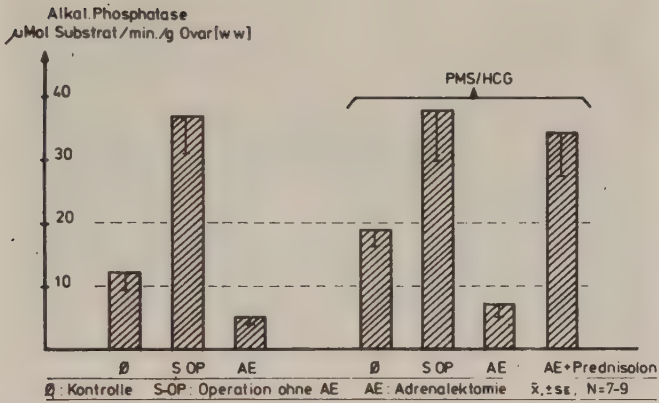


Abb. 10 Alkalische Phosphatase Aktivitäten in den Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation

Auf Abb. 10 a sind die nach erfolgter AE und Stimulation mit PMS/HCG deutlich vergrößerten Ovarien zu sehen.

Im Gegensatz dazu, sind auf der Abb. 10b die Ovarien klein. Die Nebennieren sind deutlich an den oberen beiden Nierenpolen zu sehen.

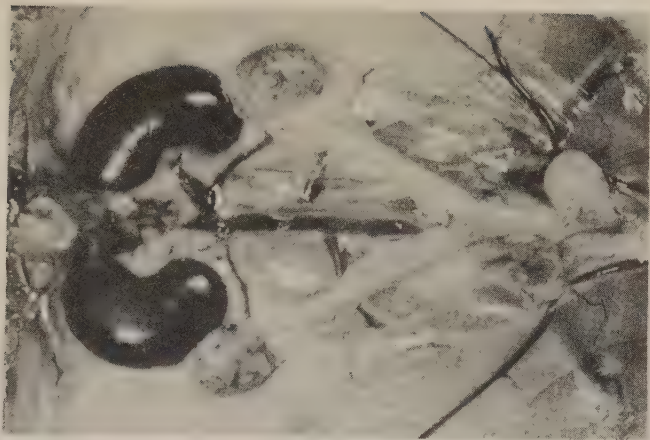


Abb. 10a Bauchsitus - Adrenalektomie + Stimulation
Alter der Ratten 29 Tage

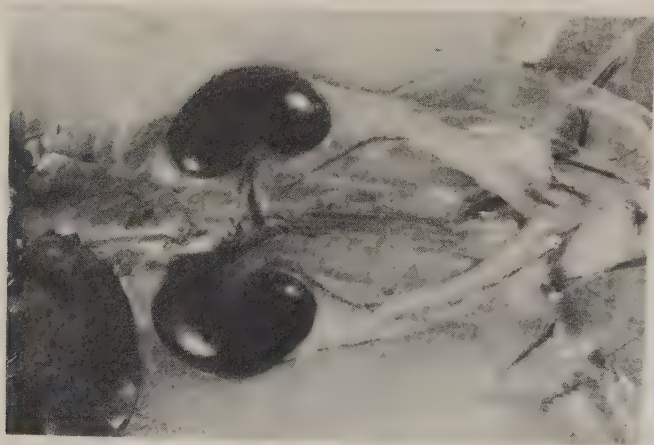


Abb. 10b Bauchsitus - Scheinoperation
Alter der Ratten 29 Tage

7. Leuzin-Aminopeptidase

Die LAP ist ein Enzym, das am Proteinstoffwechsel beteiligt ist, und zwar beim Abbau von Peptiden, in denen die Aminosäure Leuzin eingebaut ist.

Bei den nicht mit PMS/HCG behandelten Tieren führt sowohl die Scheinoperation als auch die Adrenalektomie zu einem deutlichen Aktivitätsanstieg im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Die Untersuchungen zeigen, daß auch dieses Enzym unter der PMS/HCG Stimulation an Aktivität zunimmt. Bei den Kontrolltieren erfährt die LAP außerdem durch die Stimulation eine signifikante Aktivitätszunahme. Der Verlust der Nebenniere führt unabhängig von der Stimulation bei den Gruppen der adrenaletomierten Tiere zu einem Aktivitätsverlust dieses Enzyms im Vergleich zu den nur scheinoperierten Tieren.

Damit unterliegt auch die LAP einem Stimulationseffekt durch PMS/HCG; zum anderen resultiert durch die verminderte Glucocorticoidausschüttung ein Aktivitätsverlust.

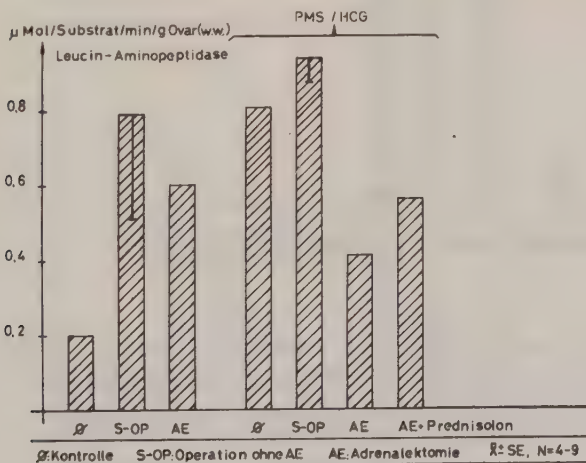


Abb. 12 Leuzin-Aminopeptidase Aktivitäten in Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

8. Sorbitdehydrogenase

Die SDH unterliegt ebenfalls einer endokrinen Kontrolle durch Hormone. Untersuchungen haben ergeben, daß die Aktivität dieses Enzyms mit dem funktionellen Zustand korreliert, daher erschien es von Interesse, die Aktivität dieses Enzyms in den Rattenovarien mitzubestimmen. Wie auf Abb. 11 dargestellt, führt die Stimulation mit PMS/HCG zu einer deutlichen Aktivitätszunahme in den Rattenovarien. Ein signifikanter Unterschied durch den Operationsstress (SOP) und die Adrenalektomie allein wurde nicht beobachtet.

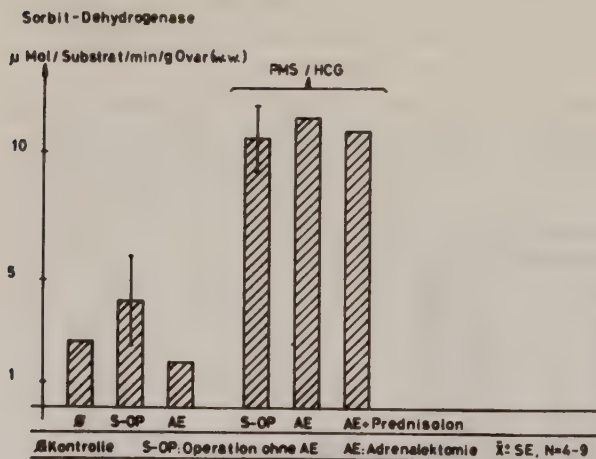


Abb. 11 Sorbitdehydrogenase Aktivitäten in den Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

9. Cholinesterase

Wie die Untersuchungen von Jakobowitz & Wallach (1967) gezeigt haben, sind im Ovar cholinergische adrener-gische Fasern nachweisbar, die sich vor allem um die Blutgefäße gruppieren, was einerseits bei der Toni-sierung der Gefäße beim Vorgang der Ovulation (da sich die Gefäße vor allem auch um den Follikel gruppieren) zum anderen aber bei der Stimulation mit PMS/HCG bis zur Corpus luteum Bildung durch zahlreiche in kürzester Zeit einsprossende Gefäße bemerkbar macht.

Die Adrenalektomie führte sowohl bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren als auch bei den nicht stimulierten Tieren zu einer Aktivitätsminderung der Cholinesterase.

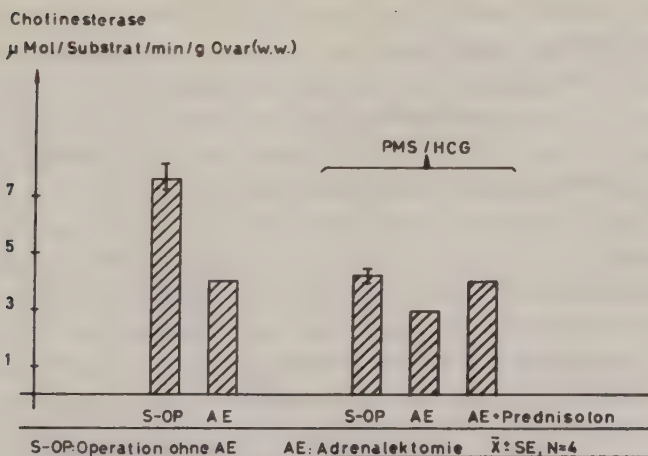


Abb. 13 Cholinesterase Aktivitäten in den Ovarien adrenaletomierter, scheinoperierter und unbehandelter Ratten mit und ohne Stimulation.

D Histologie

Zur histologischen Dokumentation wurden Ovarien von Tieren der Gruppen I, II, IV und V sowie von Kontrolltieren gewählt. Die histologischen Präparate wurden mit einem Agfachrome 50 L Professional in HE-Färbung und mit optischen Geräten der Fa. Leitz fotografiert.

Wie bereits in verschiedenen Arbeiten (McKerns 1965, Wiest et.al. 1963, Neal & Baker 1974, Rennels 1966) berichtet worden ist, haben sowohl PMS und HCG einen stimulierenden Effekt auf das Wachstum und die Reifung von Oocyten zu Tertiärfollikeln bei juvenilen Rattenovarien. Experimentell ist bewiesen, daß nur die Gabe von beiden gonadotrop wirkenden Hormonen den günstigsten Stimulationseffekt auf die Reifung der Ovarien hervorruft. Die Autoren Greep (1961), Zarrow & Quinn (1963) und L. Nilsson (1974) sprechen von einem synergistisch potenzierenden Effekt der Gonadotropine.

Dabei steigt die Mitoserate der Theca- und der Granulosazellen um das Mehrfache an, dieser Effekt konnte auch histologisch gesichert werden. Wird nur HCG verabreicht, so steht die Proliferation und Luteinisierung der Thecazellen im Vordergrund (Greep, v.Dyke & Chow 1942, Wiest et.al. 1963). Daraus folgt eine Zunahme der Enzymaktivität im Ovar.

Wird nur PMS verabreicht, so erfolgt sowohl eine Proliferation der Theca- als auch der Granulosazellen.

Wie bei den Autoren McKerns (1965), Rennels (1966) und Zarrow & Quinn (1963) berichtet worden ist, besteht eine Korrelation zwischen dem Alter der Versuchstiere und dem Erfolg der Stimulation durch gonadotrop wirkende Hormone.

Ying & Meyer (1969) konnten durch die Gabe von 20 - 30 IE PMS (FSH Wirkung) bei juvenilen weiblichen Ratten am 22. Lebenstag einen signifikanten Anstieg der Ovulation von 57.14 auf 88.88 Prozent erzielen.

Dabei stiegen die Ovargewichte der Tiere auf ca. 71% gegenüber unbehandelten Tieren an.

Ein ähnlicher Anstieg von ca. 73% konnte durch die Gabe von 50 IE PMS (Anteron) und 25 IE HCG (Primogonyl) bei den Kontrolltieren s. Abb. 1 erreicht werden.

Zarrow und seine Mitarbeiter (1966) berichten, daß eine hohe Dosis von 30 IE PMS nur auf die Follikel wirkt und eine hohe Östrogenausscheidung zur Folge hat, die dann wiederum die LH-Freisetzung verhindert.

Die Verabreichung der Hormone FSH/LH erzielt nur dann den günstigsten Stimulationseffekt, wenn die Verabreichung den normalen Zyklus der Ratten entspricht. Rennels (1966) konnte ebenfalls durch Versuche zeigen, daß die Stimulierung der Ratten mit PMS/HCG im Alter von 3 Wochen eine größtmögliche Zunahme der juvenilen Rattenovarien bewirkt. Elektronenmikroskopisch konnte Rennels (1966) zeigen, daß es sich um eine zahlenmäßige Zunahme und um eine Größenzunahme der Mitochondrien handelt. Hieraus folgt ferner eine Zunahme des energiereichen ATP Anteils. Wie in Abb. 2 zu sehen ist, resultiert ein signifikanter Anstieg des energiereichen Phosphates bei den stimulierten Kontrolltieren.

Das ebenfalls am enzymatischen Geschehen beteiligte glatte endoplasmatische Retikulum (Rennels 1966) proliferierte unter der Stimulation von PMS/HCG. Eine Zunahme zellstoffaktiver Bestandteile der Zelle, wie Golgi Apparat und sekretorischer Granula, gehen mit der Zunahme der Mitochondrien parallel.

Aus histologischen Untersuchungen weiß man, daß Gelbkörper oder interstitielle Zellen, die für die Synthese von Steroidhormonen als notwendig erachtet werden, nur im Ovar und in der Nebennierenrinde vorkommen. In der Nebennierenrinde und im Ovar finden wir die gleichen Mitochondrientypen, rund mit tubulären Christae, wobei die Tubuli als morphologischer Ausdruck der Steroidsynthese gelten.

Nach erfolgter Adrenalektomie können in den luteinisierten Zellen, unabhängig davon, ob die Tiere mit Prednisolon

substituiert wurden oder nicht, alle Strukturen einer normalen Zelle 1. Mitochondrien, 2. ein reich entfaltetes endoplasmatisches Retikulum, 3. Lipoidtropfen, 4. ausgedehnte Verzahnungen der Zellen untereinander, 5. reichlich freie Ribosomen nachgewiesen werden.

Die Zellen erscheinen lediglich etwas dichter gepackt, was besonders deutlich an den Mitochondrien zu sehen ist (Neumann & Stähler 1974).

Erfolgte bei den adrenaletomierten Tieren eine Prednisolonsubstitution, so ist die Ultrastruktur unverändert, man hat nur den Eindruck, als ob in den Mitochondrien die tubulären Christae vermehrt seien.

Eine Übernahme der Hormonproduktion des Ovars bei den adrenaletomierten Tieren und somit eine Übernahme der Funktion, wenngleich auch in verminderter Form, kann ebenfalls durch die anatomische Koinzidenz gesehen werden.

Auf den Abb. 14 - 18 sind die Aufnahmen der Ovarien (100-fache Vergrößerung) in HE-Färbung von den Tieren der Gruppen I (AE), II (AE + Stimulation), IV (SOP), V (SOP + Stimulation) und VI (Kontrolltiere) zu sehen. Wie bereits erwähnt, sind die Zellen der Ovarien bei den adrenaletomierten Tieren dichter gepackt.

Nach erfolgter Stimulation mit PMS/HCG ist sowohl bei den scheinoperierten als auch bei den adrenaletomierten Tieren eine Zellproliferation in den Follikeln deutlich zu sehen.

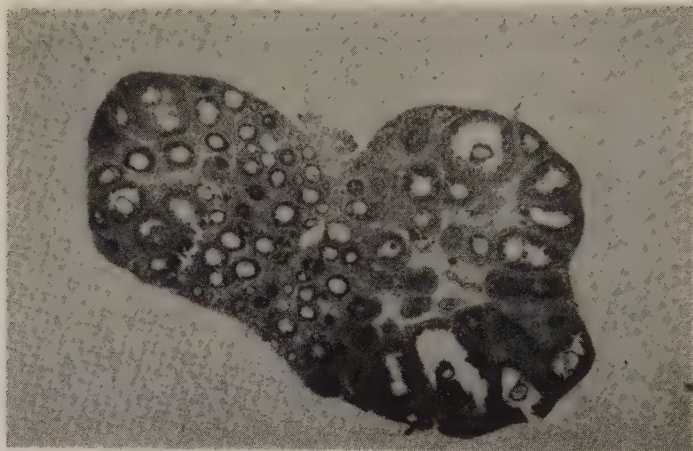


Abb. 14 Ovar der Gruppe VI - Kontrolltiere

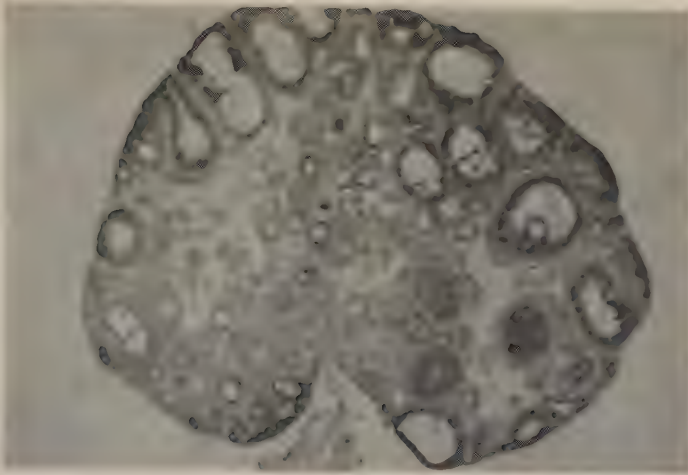


Abb. 15 Ovar der Gruppe I - Adrenalektomierte Ratten



Abb. 16 Ovar der Gruppe II - Adrenalektomierte + stimulierte Ratten.

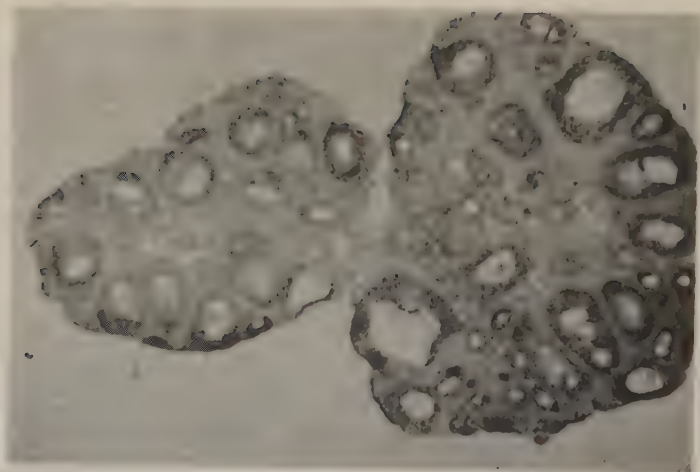


Abb. 17 Ovar der Gruppe IV- scheinoperierte Ratten



Abb. 18 Ovar der Gruppe V - scheinoperierte +
stimulierte Ratten

E Diskussionsteil

I. Substrate

Wie auf Abb. 2 und Abb. 3 zu sehen ist, führt der Operationsstreß zu einem gewaltigen Anstieg des Lactat/Pyruvat Quotienten bei einem gleichzeitigen Abfallen des ATP/ADP Quotienten.

Wie bekannt ist, unterliegt der ovarielle Energiestoffwechsel einer endokrinen Kontrolle durch gonadotrope Hormone. So konnten Ahren, Hamberger & Rubinstein (1969) zeigen, daß der ATP Umsatz im Ovar durch die Aktivierung der ATP-ase und der Atmungskettenphosphorylierung zunimmt.

Die Sauerstoffaufnahme isolierter Granulosazellen ist unter LH Stimulation tatsächlich erhöht (Hamberger & Ahren 1967, Ahren, Hamberger & Hamberger 1965).

Die Bestimmung der beiden im Ovarstoffwechsel so wichtigen Metabolite ATP und ADP erschien daher von besonderem Interesse zu sein. Aus Abb. 2 geht deutlich hervor, daß die gonadotropen Hormone PMS/HCG zu einer Zunahme der ATP Konzentration in den Ovarien aller vier Gruppen führt. Dieser Befund steht damit im Einklang mit der bereits bekannten Wirkung der Gonadotropine auf Atmungskettenphosphorylierung, ATP-ase und Sauerstoffaufnahme.

Als zweiter wichtiger Befund fällt auf, daß bei den scheinoperierten Tieren allein der Operationsstreß sowohl bei den nicht stimulierten als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren zu einer signifikanten Abnahme des ATP Gehaltes im Ovar führt.

Die Regulation des Stoffwechsels erfolgt im physiologischen Bereich nicht durch die absoluten Substratkonzentrationen im Gewebe, sondern durch die Einstellung bestimmter Metabolitenquotienten, wobei den Redoxpaaren Lactat/Pyruvat und ATP/ADP als Regulativ eine besondere Rolle zukommt.

Der ATP/ADP Quotient liegt dabei nach Angaben der Literatur im Bereich von 2 - 3 (Ahren, Beviz, Hamberger L. & Lundholm 1968, Schimassek 1963).

In Tabelle I sind die ermittelten ATP/ADP Quotienten in den Rattenovarien nochmals dargestellt (s.S.12).

Es ist zu sehen, daß die ermittelten Werte im physiologischen Bereich liegen.

Weiterhin fällt auf, daß sowohl bei den nicht stimulierten als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren die SOP und die AE zu einem deutlichen Absinken des Redoxquotienten ATP/ADP führt, wobei zwischen den scheinoperierten und den adrenaletomierten Tieren keine deutlichen Unterschiede im Verhalten des ATP/ADP Quotienten eintreten.

Der Abfall dieses Metabolitenquotienten ist damit nicht spezifisch auf die Adrenaletomie zurückzuführen, sondern wahrscheinlich auf den allgemeinen Operationsstreß durch Ätheranästhesie, Verschiebungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt sowie pH-Wert.

Betrachtet man auf Abb. 2 die Veränderungen im ATP Gehalt, so fällt auf, daß der ADP Gehalt adrenaletomierter Ratten im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren ansteigt, bei einem gleichzeitigen ATP Abfall. Das ist ein Hinweis darauf, daß ATP vermehrt für energieverbrauchende Prozesse hydrolysiert wird, auf der anderen Seite aber die Atmungskettenphosphorylierung mit der gekoppelten ATP Bildung reduziert ist.

Die Gesamtkonzentration an ATP und ADP nimmt unter der Stimulation mit PMS/HCG deutlich zu, was wiederum ein Hinweis dafür ist, daß der ovarielle Energiestoffwechsel einer endokrinen Kontrolle durch FSH/LH unterworfen ist.

Was den Anstieg des Lactat/Pyruvat Quotienten betrifft, so kann dieser bei den scheinoperierten Tieren eigentlich nur durch eine maximale Glucocorticoidausschüttung aus der NNR mit einer Aktivierung gluconeogenetischer Reaktionen hervorgerufen werden. Wie schon kurz zuvor besprochen, kommt dem Redoxquotienten Lactat/Pyruvat im zellulären Stoffwechsel eine regulative Rolle zu, wobei die Normalwerte im Bereich $10 - 30 \mu\text{Mol}$ angegeben werden.

Überprüft man daraufhin die Änderungen des Lactat/Pyruvat Quotienten in den einzelnen Gruppen, so ergibt sich ein besonders steiler Anstieg bei den scheinoperierten Tieren

von 17 auf 105 bei den nicht stimulierten scheinoperierten Tieren im Vergleich zu den nicht stimulierten Kontrollen und von 22 auf 75 bei den mit PMS/HCG behandelten scheinoperierten Ratten im Vergleich zu dem mit PMS/HCG behandelten Kontrollen.

Die AE selber führte auch zu einem Anstieg der Lactat/Pyruvat Quotienten, sowohl bei den nicht stimulierten als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren, die aber nicht so ausgeprägt sind wie bei den scheinoperierten Ratten. Die Prednisolonsubstitution bei den adrenalectomierten Tieren bewirkte, wie aus Abb. 2 zu ersehen ist, keine wesentliche Änderung des Lactat- und Pyruvatgehaltes der Ovarien. Da die Änderungen der Lactat/Pyruvat Quotienten nach AE und SOP auch unter der Stimulation mit PMS/HCG fast identisch sind, kann eine kompensatorisch verminderte oder vermehrte Gonadotropinausscheidung bei AE oder SOP nicht die Ursache für diese Änderung sein.

Da in allen Gruppen ein signifikanter Lactatanstieg zu beobachten war ($p < 0.01$), dürfte es sich zusätzlich um einen operationsbedingten Effekt handeln, was auf eine respiratorische und oder metabolische Azidose zurückzuführen wäre.

Der von anderen Autoren bereits beschriebene Effekt der Gonadotropine, konnte auch hier nachgewiesen werden. Wie zu sehen ist, nimmt der Lactat- und Pyruvatgehalt in den Ovarien unter der Stimulation mit PMS/HCG deutlich zu, was für eine gonadotropininduzierte Erhöhung der glykolytischen Aktivität spricht.

Dieses Phänomen ist gonadotropinspezifisch und soll durch eine erhöhte Glucoseaufnahme bei gleichzeitiger Aktivierung der Embden Meyerhof Kette hervorgerufen werden (Ahren & Kostyo 1963, Ahren, Hamberger & Parklev 1968, Armstrong & Greep 1962, Armstrong, Kilpatrick & Greep 1963).

Zwischen der LH Dosis und der Lactatproduktion soll dabei sogar eine deutliche Korrelation bestehen (Hamberger & Ahren 1967).

Die in der Arbeit vorgelegten Ergebnisse bestätigen damit die bisher gefundenen Daten in der Literatur.

Die Analyse der Veränderungen der ovariellen ATP und ADP

Konzentration ergibt, daß die SOP bereits zu einer absoluten Abnahme der Glucosekonzentration von ATP und ADP führt, unabhängig ob stimuliert wird oder nicht.

Interessanterweise ändert sich der ATP/ADP Quotient nach AE und SOP praktisch nicht.

Die AE selbst bewirkt im Vergleich zu den Kontrolltieren sowohl bei den nicht stimulierten Tieren als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren kaum eine Änderung in den absoluten Werten von ATP und ADP, sondern nur eine deutliche Verschiebung in den Relationen zu einander mit einem ADP Anstieg bei einem gleichzeitigen ATP Abfall.

Aus der Versuchsanordnung darf man folgern, daß die bei den scheinoperierten Tieren angenommene maximale Glucocorticoidausschüttung durch Stress, Ursache für den Abfall der Glucosekonzentration von ATP und ADP ist, denn auch die Substitution mit Prednisolon führte bei den adrenaletomierten Tieren ebenfalls zu einem sehr deutlichen Abfall von ATP und ADP und zwar von $4,88 \mu\text{Mol}$ auf $2,78 \mu\text{Mol/g Ovar w.w.}$

An welcher Stelle die Glucocorticoide in den Ovarstoffwechsel eingreifen, darüber liegen bisher in der Literatur keine detaillierten Untersuchungen vor.

Die beobachtete Zunahme von Pyruvat und die Abnahme von Glucose in den Ovarien adrenaletomierter Ratten korreliert mit Beobachtungen an Lebergewebe adrenaletomierter Ratten, wo man ganz ähnliche Verhältnisse fand, wie hier im Ovargewebe beschrieben (Litwak & Singer 1972).

Wie zu sehen ist, bewirkt die AE keine Änderung in der Glucosekonzentration in den Ovarien im Vergleich zu den Kontrolltieren; dagegen kommt es aber bei den scheinoperierten nicht stimulierten Tieren zu einer deutlichen Zunahme der Glucose in den Ovarien, was möglicherweise auf eine reduzierte Glucocorticoidausscheidung der KNR zurückzuführen ist und im Sinne eines steroidinduzierten Diabetes gedeutet werden könnte.

Bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren fiel nach der SOP und der AE ein Abfall der Glucosekonzentration in den Ovarien auf.

II. Enzyme

1. Wasserstoffübertragende Enzyme

Bei der Regulation der Ovarfunktion durch gonadotrope Hormone kommt den wasserstoffübertragenden Enzymen G-6-PDH, ICD, LDH und MDH eine besondere Rolle zu. Ihre Aktivitäten stehen in einer engen Korrelation zum Gewicht der Ovarien und ihrer spezifisch sekretorischen Leistung. Bei den von ihnen katalysierten Reaktionen werden als Co-Enzyme NAD und NADP essentiell benötigt, die dann in ihrer hydrierten Form (als NADH und NADPH) nach Reaktionsschluß dem Stoffwechsel des Ovars zur Steroidbiosynthese zur Verfügung stehen, wobei sie ebenfalls als ein obligater Co-Faktor benötigt werden. Untersuchungen von Eckstein & Landsberg (1963), McKerns (1965 und 1969) sowie Kidwell, Balogh & Wiest (1966) zeigten, daß der G-6-PDH und der NADP abhängigen ICD eine Schlüsselrolle zukommt. Die G-6-PDH kommt in fast allen menschlichen und tierischen Geweben vor, sie katalysiert die Reaktion Glucose-6-phosphat zum Glucose-6-phosphogluconat. Bei dieser Reaktion wird NADPH freigesetzt. Dieser Reaktionsmechanismus wird durch gonadotrop wirkende Hormone noch aktiviert.

Die ICD, ein Schlüsselenzym des Zitronensäurezyklus, katalysiert die reversible Reaktion von D-Isocitrat zum -Keto-glutarat. Hierbei wird ebenfalls NADPH frei.

Interessanterweise ist die NADP abhängige ICD extramitochondrial lokalisiert, aber auch intramitochondrial ist dieses Enzym zu finden und reagiert dort mit NAD als Co-Enzym. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei der NADP abhängigen MDH. Vor allem wurden diese Enzyme in Organen mit einer hohen Steroidbildung (z.B. Ovar und Nebenniere der Ratte) gefunden (Wise & Ball 1964, Peron & Caldwell 1968). Die LDH sowie die MDH unterliegen ebenfalls einer endokrinen Kontrolle durch gonadotrope Hormone. Sie alle erleiden nach Hypophysektomie einen starken Aktivitätsverlust und nehmen durch Stimulation mit PMS/HCG bereits nach 2 Stunden wieder zu (McKerns 1969).

Die vier bestimmten wasserstoffübertragenden Enzyme wurden bereits von anderen Autoren enzymatisch und histochemisch in menschlichen und tierischen Ovarien nachgewiesen (König 1967, Schuh et.al. 1973), wobei besonders für die G-6PDH gezeigt werden konnte, daß das besondere Verteilungsmuster dieses Enzym in den funktionell reifen Follikeln bzw. Corpora lutea der Ovarien zu finden ist. Daß die G-6PDH sowie die ICD durch gonadotrope Stimulation erheblich in ihrer Aktivität ansteigen (s. Abb. 4), wurde bereits von Brandau (1970) beschrieben, wobei der Aktivitätsanstieg beider Enzyme als ein erhöhter Steroidmetabolismus gewertet werden darf.

Hohe G-6PDH Aktivitäten wurden im Gelbkörper des Rindes gefunden (Schuh et.al. 1973). Bei dieser Studie lag die Aktivität der G-6PDH im Ovarialgewebe wesentlich höher als in untersuchten Vergleichsorganen wie Leber und Muskel, während die Konzentrationen der MDH und der LDH im Ovar stets niedriger als in den genannten Vergleichorganen waren.

Dies ist als ein weiterer Beweis dafür zu werten, daß speziell die G-6PDH ein für die ovarielle Steroidbiosynthese erforderliches Enzym ist, das z.B. besonders bei testosteronochandelten juvenilen weiblichen Ratten einen erheblichen Aktivitätsverlust aufweist, mit Rückgang der Ovargewichte im Vergleich zu Normaltieren (Raig, Brandau & Luh 1968). Die in vorliegender Arbeit ermittelten Werte der G-6PDH von $2.8 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ entsprechen den Werten anderer Autoren (ca. $3.4 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ - Raig, Brandau & Luh 1968, Brandau 1970). Wie aus Abb. 4 hervorgeht, bewirkt die gonadotrope Stimulation bei allen bestimmten wasserstoffübertragenden Enzymen in allen Kontrollgruppen einen signifikanten Aktivitätsanstieg.

Auch von anderen Autoren wurde im Ovarialgewebe nach gonadotroper Stimulation ein Aktivitätsanstieg wasserstoffübertragender Enzyme gefunden (Eckstein 1962, Eckstein & Landsberg 1963, Eckstein & Shain 1963, Armstrong 1963, Armstrong & Greep 1963, Armstrong, Kilpatrick & Greep 1963).

Die LDH, ein glykolytisches Enzym der Embden Meyerhof Kette, ist in den Theca-interna-Zellen der Tertiärfollikel und in den Theca- und Granulosazellen der Corpora lutea enzymatisch nachgewiesen worden. Brandau und Luh (1964) fanden, daß glykolytische Enzyme wie die LDH in endokrin tätigen Geweben des Ovars um den Faktor 10 höher liegen als im Ovarialbindegewebe.

Die Stimulation der wasserstoffübertragenden Enzyme durch gonadotrope Hormone hat somit folgende Phänomene im Ovarialstoffwechsel zur Folge: Die Aktivitätssteigerung glykolytischer Enzyme, sowie wichtiger Schlüsselenzyme des Zitronensäurezyklus führt einmal dazu, daß vermehrt Glucose abgebaut wird - zu Acetyl CoA - einem obligaten Ausgangssubstrat zur Steroidbiosynthese über Cholesterin, Pregnenolon und Progesteron.

Zum anderen fließt Acetyl CoA in den Zitronensäurezyklus ein und reagiert mit dem Oxalacetat zur Zitronensäure.

Die Aktivierung des Zitronensäurezyklus hat zur Folge, daß Wasserstoffionen über die Atmungskettenphosphorylierung zu einer vermehrten Energiebereitstellung in Form von ATP beitragen. Die selektive spezifische Stimulation der wasserstoffübertragenden Enzyme führt dazu, daß genügend NADPH und NADP, welche als essentielle Co-Faktoren für die Steroidbiosynthese erkannt wurden, bereit gestellt werden. Der Stimulationseffekt läßt sich damit auf drei wesentliche Schritte reduzieren: Bereitstellung von Ausgangssubstrat sowie den zur Steroidbiosynthese essentiell notwendigen Co-Enzym und Aktivierung von Energiedepots zu synthetischen Stoffwechselleistungen.

Im folgenden muß noch kurz auf den Effekt der AE eingegangen werden: Wie zu sehen ist, kommt es in den Ovarien infolge der AE bei der Gruppe der nicht stimulierten Tiere zu einem Aktivitätsverlust bei den Enzymen MDH, LDH, ICD und G-6PDH ($p < 0.05$).

Dieser Befund spricht dafür, daß die nach AE beobachtete vermehrte ACTH Ausschüttung auf Kosten der Gonadotropine erfolgt, wie es von Selye (1950), Edgren (1964) und Goldzieher (1968) berichtet wurde. Wird unter der Stimulation

von PMS/HCG eine Adrenalektomie durchgeführt, so kommt es dadurch bis auf die LDH zu keinen signifikanten Änderungen im Aktivitätsverhalten der Enzyme im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren ($p > 0.1$). Auch dieser Befund spricht wie die Gewichtsreduzierung der Ovarien nach AE dafür, daß der Verlust der Nebenniere mit seiner kompensatorisch erhöhten ACTH Ausscheidung durch die Hypophyse, zu einer verminderten Sekretion von gonadotropen Hormonen führt.

Interessant ist, daß aber auch der Operationsstress allein mit seinen Elektrolytverschiebungen, pH-Veränderungen, respiratorischen und metabolischen Einflüssen zu einer Beeinträchtigung des ovariellen Stoffwechsels führt, mit einer deutlich messbaren Minderung der Aktivitäten der wasserstoffübertragenden Enzyme.

2. GOT/GPT/GLDH

Zu den wichtigen Enzymen zwischen dem Citratcyclus und dem Aminosäurestoffwechsel zählen die Enzyme GOT und GPT, die anapole (Price & Critz 1964, Eckstein 1962) bzw. Katabole (Eckstein & Landsberg 1963) Stoffwechselmechanismen beeinflussen. Daß beide Enzyme unter dem Einfluß der gonadotrop wirkenden Hormone PMS/HCG mit unterschiedlicher Aktivität auf die Ovarien und Uteri von Ratten wirken, beobachtete Eckstein (1964), wozu die Vermutung geäußert werden kann, daß die verschiedenen Aktivitäten der GOT und der GPT aus den unterschiedlichen Verteilungsmuster der beiden Enzyme in der Zelle resultiert.

Eckstein (1964) verglich den Aktivitätsanstieg beider Enzyme in juvenilen Rattenovarien bzw. Rattenuteri und fand heraus, daß die GOT die 10-fache Aktivität der GPT aufwies, wobei aber die Stimulationsschwelle durch Gonadotropine für die GPT wesentlich geringer war als für die GOT.

Unter der Gabe von PMS/HCG konnte bei den Gruppen der stimulierten Tiere ein Aktivitätsanstieg der GOT um den Faktor 8.9 - 10 erreicht werden (s. Abb.6)

In einer Studie über Enzymmuster in menschlichen perfundierten Ovarien konnte unter der Einwirkung von LH gezeigt werden (Stähler et.al. 1972), daß der Aktivitätsanstieg der GOT ebenfalls stets höher war als bei der GPT. Durch zahlreiche in vivo Versuche wurde der gleiche Effekt bei juvenilen Rattenovarien gefunden. Hier lag die Aktivität der GOT $14.4 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ (45. Lebenstag der Versuchstiere) gegenüber $12 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ (29. Lebenstag der Versuchstiere) und bei der GPT $0,2 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ (45. Lebenstag der Versuchstiere) gegenüber $1,7 \mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ (29. Lebenstag der Versuchstiere). (Vergleich der Werte für GOT und GPT bei den nicht stimulierten Kontrolltieren mit den Ergebnissen von Raj, Branqau, Luh 1968).

Aus bisher gewonnenen Forschungsergebnissen geht hervor, daß die GPT (Raig, Brandau, Luh 1968) einen niedrigeren Aktivitätsanstieg aufweist, im Vergleich zu zahlreichen im intermediären Stoffwechsel beteiligten Enzymen des Citratcyclus, Aminosäurestoffwechsel und Enzymen der Glykolyse, vorausgesetzt, die Versuchstiere unterliegen normalen physiologischen Lebens- und somit Stoffwechselbedingungen.

Es besteht kein Zweifel darüber, daß der Gewichtsanstieg von Rattenovarien bzw. Rattenuteri (Eckstein 1964) unter der Stimulation mit gonadotropen Hormonen gleichzeitig mit einem Aktivitätsanstieg der GPT einhergeht, wobei die erhöhten Enzymwerte als ein Ausdruck einer gesteigerten Produktion von Sexualhormonen anzusehen sind.

Ein weiteres Enzym des intermediären Stoffwechsels, das als Vermittler zwischen dem AS-Stoffwechsel und dem Citratcyclus beteiligt ist, stellt die GLDH dar, ein für das Glutamat streng spezifisches Enzym.

Die Enzymaktivität der GLDH wird am Anstieg des Oxalacetats gemessen. Aus dem Vergleich der Abb.6 und der Abb.7 ist bei den Gruppen der mit PMS/HCG behandelten Tiere sowohl ein Anstieg der GOT als auch der GLDH zu sehen, wobei sich der Vergleich nicht auf die Enzymaktivitäten $\mu\text{Mol/Substrat/min/g Ovar w.w.}$ bezieht, sondern lediglich auf die Tendenz der Aktivitätsanstiege.

Hohe GLDH Aktivitäten in Gelbkörpern des Rindes wurden bereits von Schuh et.al. 1973 beschrieben, die auf eine reichliche Ausstattung der Zellen mit tubulären Mitochondrien in den reifen Ovarien schließen lassen. Auf Abb.7 ist eine deutliche Aktivitätszunahme der GLDH in den Ovarien der mit PMS/HCG behandelten Tiergruppen zu verzeichnen, was wiederum auf eine funktionelle Differenzierung und Reifung der Rattenovarien schließen läßt.

3. Aldolase und Pyruvat-Kinase

Als weitere Enzyme der Glykolyse sind die Aldolase und die PK zur Charakterisierung des Stoffwechsels im Ovar bestimmt worden.

Der in der hier vorliegenden Arbeit ermittelte Wert für die PK entspricht nicht dem in der Literatur gefundenen Wert ($24 \mu\text{Mol/Substrat/min/g}$ Ovar w.w. - Raig, Brandau & Luh 1968), sondern liegt mit $3 \mu\text{Mol/Substrat/min/g}$ Ovar w.w. wesentlich darunter. Die PK ist als Enzym der Glykolyse nicht direkt an der Steroidproduktion des Ovars beteiligt. Ihre Aktivität wird durch gonadotrope Hormone nicht spezifisch beeinflusst. Diese Feststellung konnte durch die hier vorliegenden Ergebnisse ebenfalls bestätigt werden.

In Abb. 9 ist zwar ein ganz geringer Anstieg der PK-Aktivität durch die Stimulation mit PMS/HCG zu verzeichnen, der jedoch im Vergleich zu den unbehandelten Tieren keinen nennenswerten Unterschied aufweist.

So liegt die Vermutung nahe, daß die PK keine für das Ovar organspezifische Funktion ausübt, wie es aber im umgekehrten Fall im Uterusgewebe bei Ratten bewiesen ist (Raig, Brandau & Luh 1968).

Wie bereits im Ergebnisteil berichtet, sind die Aktivitätsanstiege der Aldolase ähnlich der PK, wobei sich aber die Vergleichenicht auf die Enzymaktivitäten $\mu\text{Mol/Substrat/min/g}$ Ovar w.w., sondern auf das fast gleiche Verhalten der Enzyme in den jeweiligen Tiergruppen beziehen. Aus einem Vergleich der Abb. 8 und der Abb. 9 geht dies deutlich hervor.

Wesentlich höhere Konzentrationen der Aldolase in menschlichen Ovarien wurden von den Autoren Unbehaun, Jung & Kidess (1965) beschrieben.

Dieser Aktivitätsunterschied liegt möglicherweise an dem funktionell höheren Reifungsgrad menschlicher Ovarien gegenüber den Ovarien der hier benutzten Versuchstiere.

Diese Kausalität trifft für ein anderes im Kohlenhydratstoffwechsel sehr wichtiges Enzym (G-6PDH) zu und ist von McKerns (1964) bei Rattenuteri beschrieben worden.

Die Enzymwirkung der Aldolase besteht in einer reversiblen Spaltung von Fructose 1,6 diphosphat zu Dihydroxyacetonphosphat + Glyceraldehyd 3-phosphat. Die hohen Werte für die Aldolaseaktivität in Rattenovarien, wie sie von anderen Autoren (Raig, Brandau, Luh 1968) nachgewiesen worden sind, konnten nicht bestätigt werden.

Das Absinken der Aldolase- und PK-Aktivitäten durch operative Eingriffe (SOP und AE) ist sowohl bei den nicht stimulierten Tieren als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Ratten signifikant.

Der Aktivitätsabfall beider Enzyme macht deutlich, daß allein durch den operativen Eingriff die physiologische Stoffwechsellaage der Tiere stark beeinträchtigt und die funktionelle Leistung des Ovars deutlich gegenüber den Kontrolltieren verändert worden ist.

4. Alkalische Phosphatase

Ein empfindlicher Parameter für das Vorhandensein und den Einfluß der Glucocorticoide ist der Nachweis der AP. Wie Chieffi & Carfagna (1960), Moog (1952) und Valentine et.al. (1954) zeigen konnten, nimmt die Aktivität der AP unter dem Einfluß von Glucocorticoiden zu und dieser Effekt erwies sich nach den von Cox & McLeod (1961) an zahlreichen Säugergeweben durchgeführten Untersuchungen sogar als spezifisch.

Aus diesem Grund wurde in den hier vorliegenden Untersuchungen die AP mitbestimmt, um den Effekt der AP auf den Stoffwechsel des Rattenovars genauer bestimmen zu können.

Cox & McLeod (1961) konnten in Zellkulturen, bei Zugabe von 0,5 mg Prednisolon/ml Gewebehomogenat, einen Anstieg der AP um das 5 bis 20-fache erreichen.

Die Autoren Unbehaun, Jung & Kiess (1965) beschrieben ferner, daß eine wesentlich höhere Aktivität der AP in den heranwachsenden Tertiärfollikeln als in den reifen Tertiärfollikeln zu finden war. Die Autoren Ober (1950) und König (1965) wiesen nach, daß die AP nur in den Thecazellen menschlicher Ovarien vorkommt.

Daß die Stimulation mit PMS/HCG einen Anstieg der AP-Aktivität zur Folge hat, geht aus der Abb. 10 deutlich hervor. Erfahrungsgemäß führt jeder Streß zu einer Ausschüttung von Glucocorticoiden aus der NNR und wie man aus den dargestellten Ergebnissen entnehmen kann, nimmt die Aktivität in den adrenaletomierten Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant ab und die scheinoperierten Tiere, von denen man annehmen darf, daß sie eine maximale Glucocorticoidausschüttung aus der NNR haben, wiesen in ihren Ovarien die höchste Aktivität auf. Erfolgt, wie bereits im Ergebnisteil berichtet, eine Substitution mit Prednisolon, so steigt auch die Aktivität der AP wieder signifikant an.

Die Glucocorticoide beeinflussen also auch die ovarielle AP.

Auch in der Rattenleber ist die AP durch Glucocorticoide in ihrer Aktivität stimulierbar (Kochakian 1967).

Die Phosphatasen katalysieren die hydrolytische Spaltung von Phosphorsäureestern.

Eine Aktivitätszunahme der AP geht parallel mit einer Steigerung des Stoffwechsels. Das Enzym ist auch beim Abbau energiereicher Phosphatverbindungen beteiligt.

5. Leuzin-Aminopeptidase

König (1965, 1966) wies das Vorhandensein des eiweiß-spaltenden Enzyms LAP histochemisch in den Thecazellen der Tertiärfollikeln menschlicher Ovarien nach.

Die für den Aminosäurenstoffwechsel so wichtige Exo-peptidase wurde von anderen Autoren (Unbehaun, Jung und Kidess 1965) enzymatisch in menschlichen und tierischen Ovarien nachgewiesen, wobei die Autoren stets eine hohe Aktivität der LAP in den heranwachsenden Follikeln nachweisen konnten.

Dieser Effekt ist auf die Wirkung des FSH (PMS) zurückzuführen. Daß eine Aktivierung der LAP durch PMS/HCG erfolgt, ist auf der Abb. 12 deutlich zu sehen.

Die durch PMS/HCG induzierte Aktivitätszunahme ist wahrscheinlich eine spezifische Wirkung des FSH (PMS) auf das proteolytische Enzym LAP.

Da bei der in vorliegender Arbeit angewandten Extraktion der Enzyme die fraktionierte Aufspaltung der LAP nicht erfaßt wurde, ist über die Einzelaktivitäten der für dieses Enzym gefundenden 5 Isoenzyme keine Aussage möglich.

Da die LAP von verschiedenen Autoren König (1965, 1966) und Fuhrmann (1959) nur in den Thecazellen nachgewiesen worden ist, liegt die Vermutung nahe, daß durch die Aktivitätszunahme der LAP bei den PMS/HCG behandelten Tieren eine wesentlich höhere Produktion von Sexualhormonen (Östrogene) vorliegt. Das wird besonders durch den Aktivitätsvergleich der LAP zwischen den nicht stimulierten und den mit PMS/HCG behandelten Kontrolltieren deutlich. Ein Aktivitätsanstieg der Enzyme erfolgt mit der Reifung von Oocyten zu Tertiärfollikeln. Da bei den PMS/HCG behandelten Tieren die vorzeitige Reifung und Differenzierung der Ovarien durch Stimulation induziert wurde, liegt bei den hier verwendeten Versuchstieren (Alter der Ratten 29 Tage) eine vorzeitige funktionelle Reifung der Ovarien vor.

6. Sorbitdehydrogenase

Die Bestimmung der SDH im menschlichen Serum hat sich als ein organspezifischer Indikator für eine Leberschädigung herausgestellt (Gerlach 1959).

In einigen Arbeiten konnte gezeigt werden, daß dieses Enzym auch in anderen Organen als in der Leber eine bedeutende Rolle spielt.

So fanden Mills & Feans (1972) bei Untersuchungen an Ratten, daß die SDH ein "marker protein" für die testikuläre Entwicklung ist.

Die Aktivität nimmt im Rattenhoden nach Hypophysektomie stark ab und nach Gabe von FSH/LH wieder zu. Der Aktivitätsanstieg der SDH soll ein Zeichen der gonadotropin-induzierten testikulären Proteinsynthese sein.

Untersuchungen über Aktivitätsbestimmungen in Ovarien lagen bisher in der Literatur nicht vor. Wie die Ergebnisse zeigen, kommt dieses Enzym in meßbaren Konzentrationen im Rattenovar vor und scheint auch dort ebenfalls einer endokrinen Kontrolle durch die Gonadotropine zu unterliegen, denn nach Stimulation mit FMS/HCG kommt es in allen Gruppen zu einem recht eindrucksvollen Aktivitätsanstieg der SDH.

Welche Funktion die SDH im Ovarstoffwechsel einnimmt, darüber kann hier natürlich noch nichts Genaues gesagt werden.

Da bei der Reaktion $\text{Sorbit} \xleftarrow{\text{SDH}} \text{Fructose NAD bzw. NADH}$ als Co-Enzyme essentiell benötigt werden, wäre zu prüfen, ob dieses Enzym bei dieser Reaktion als Wasserstoffdonator (NADH) für die Steroidsynthese eine Rolle spielt.

7. Cholinesterase

Die Cholinesterase ist in der einschlägigen Literatur meist nur mit histochemischen Methoden (König & Stier 1963, König 1967) in den verschiedenen Schichten des Ovars nachgewiesen worden.

Wie bereits im Ergebnisteil berichtet, hat die Cholinesterase eine wichtige tonisierende Funktion auf die Gefäße beim Vorgang der Reifung und Ovulation des Ovars, wobei dieses Enzym auch durch die Zellvermehrung der Theca- und der Granulosazellen zunimmt (König 1967). Ein signifikanter Aktivitätsanstieg in den Gruppen der PMS/HCG behandelten Tiere konnte jedoch hier nicht ermittelt werden, die Werte der mit PMS/HCG behandelten Tiere entsprachen lediglich dem Wert der nur adrenalektomierten nicht stimulierten Ratten.

Bei einem Vergleich der Abb. 1 (Ovargewichte) und Abb. 13 (Cholinesterase-Aktivitäten), kann man bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren, bei denen die erhöhte Mitoserate der Theca- und der Granulosazellen den Gewichtsanstieg der Ovarien dokumentiert, auch ein ähnliches Verhalten in der Aktivität der Cholinesterase zeigen. Somit kann analog den histochemischen Ergebnissen (König 1967) auch enzymatisch ein Aktivitätsanstieg der Cholinesterase bei einem Gewichtsanstieg der Ovarien durch Reifung bei den Gruppen IV, II und III diskutiert werden.

F Zusammenfassung

- 1) Die Untersuchungen zeigen, daß der Ovarstoffwechsel juveniler Ratten durch die NNR mitbeeinflusst wird. Das kann einmal hervorgerufen werden durch den Verlust der Nebennierenrindensteroiden, zum anderen aber auch durch eine verminderte Gonadotropinsekretion aus der Hypophyse, was durch die kompensatorisch vermehrte ACTH-Ausschüttung nach AE erklärt wird.
- 2) Die Veränderungen im ovariellen Stoffwechsel nach AE fanden sich sowohl bei den nicht stimulierten als auch bei den mit PMS/HCG behandelten Tieren.
- 3) Das Gewicht der Ovarien nimmt nach Adrenalektomie ab, Prednisolonsubstitution führt wieder zu einem Anstieg, der aber nicht die Ausgangswerte erreicht.
- 4) Der ovarielle Energiestoffwechsel wird durch die AE beeinflusst, es kommt zu einem Abfall des ATP-Gehaltes, bei einem gleichzeitigen Anstieg von ADP, Lactat und Pyruvat.
- 5) Die Aktivitäten der wasserstoffübertragenden Enzyme, MDH, LDH, ICD und G-6PDH, nehmen nach AE im Ovar deutlich ab. Damit ist das Angebot von NADPH und NADH, den essentiellen Co-Faktoren für die Steroidbiosynthese, vermindert.
- 6) Nach AE kommt es zu einem Aktivitätsverlust bei der LAP und der AP, Prednisolonsubstitution bewirkt Normalisierung.
- 7) Die gonadotrope Stimulation mit PMS/HCG hat eine starke Gewichtszunahme der Ovarien zur Folge. Der gesamte Stoffwechsel wird aktiviert, was sich in einer Aktivitätszunahme fast aller bestimmten Enzyme zeigt,

sowie in einer vermehrten Bereitstellung der energiereichen Phosphate ATP und ADP.

- 8) Allein der Streß der Scheinoperation ist in der Lage, den Overstoffwechsel stark zu beeinträchtigen. Es kommt zu einem Abfall der ATP/ADP Quotienten bei einem gleichzeitigen Anstieg des Lactat/Pyruvat Quotienten, was für den Stoffwechsel eine "Crux mortis" bedeutet. Die wasserstoffübertragenden Enzyme sind in ihren Aktivitäten vermindert, nur die AP zeigt einen gewaltigen Anstieg, was auf eine maxinale Glucocorticoidausschüttung zurückzuführen ist.

Benutzte Chemikalien und Hormone

Alle Chemikalien für den Puffer sowie die Perchlorsäure waren Präparate der Fa. Merck/Darmstadt, s. auch Abschnitt A.

Der zur Narkose benutzte Äther war ein Präparat der Fa. Hoechst/Frankfurt/Main.

Anteron (FSH) und Primogonyl (HCG) waren Präparate der Fa. Schering/Berlin.

Solu-Decortin (21-hemisuccinat Natrium) war ein Präparat der Fa. Merck/Darmstadt.

Zur s.c. Injektion der Ratten wurden sterile Lösungen von Sterofundin R (Fa. Braun/Melsungen) und 0,9% NaCl-Lösungen verwendet.

Die in der Arbeit benutzten Abkürzungen

1. Hormone

ACTH: Adrenocorticotropes Hormon
FSH: Follikelstimulierendes Hormon
HCG: Choriongonadotropes Hormon
LH: Luteinisierungshormon
PMS: Pregnant mare serum

2. Substrate

ATP: Adenosintriphosphat
ADP: Adenosindiphosphat

3. Enzyme

AP: Alkalische Phosphatase
G-6PDH: Glucose-6-phosphat-dehydrogenase
GLDH: Glutamat-Dehydrogenase
GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase
ICD: Isocitrat-Dehydrogenase
LAP: Leuzin-Aminopeptidase
LDH: Lactat-Dehydrogenase
MDH: Malat-Dehydrogenase
PK: Pyruvat-Kinase
SDH: Sorbit-Dehydrogenase

4. Co-Enzyme

NAD: Nicotin-adenin-dinucleotid
NADH: reduziertes Nicotin-adenin-dinucleotid
NADP: Nicotin-adenin-dinucleotid-phosphat

AE: Adrenalektomie
SOP: Scheinoperation
NNR: Nebennierenrinde

G Literaturverzeichnis

- 1) Abraham G.E. & Chamakjian Z.H. (1973)
Serum steroid levels during the menstrual cycle in a bilaterally adrenalectomized woman.
J. Clin. Endocrinol. Metab. (37) (1973), 581
- 2) Ahren K., Hamberger A.C. & Hamberger L.A. (1965)
Action of LH in vitro on respiratory enzyme activity of isolated granulosa cells.
Endocrinology 77 (1965), 332-336
- 3) Ahren K., Beviz A., Hamberger L. & Lundholm L. (1968)
Mechanism for the action of LH on the carbohydrate metabolism of the prepubertal rat ovary.
Acta physiol. Scand. 73 (1968), 23a
- 4) Ahren K., Hamberger L. & Perklev T. (1968)
Effects of human menopausal gonadotrophin and ovine follicle stimulating hormone on lactic acid production by ovaries from prepubertal rats.
Endocrinology 82 (1968), 420-422
- 5) Ahren K., Hamberger L. & Rubinstein L. (1969)
Acute in vivo and in vitro effects of gonadotrophins on the metabolism of the rat ovary.
In *The Gonads*, ed. by McKerns K.W.
Appleton-Century-Crofts New York 1969, p. 327-354
- 6) Ahren K., & Kostyo J.L. (1963)
Acute effects of pituitary gonadotrophins on the metabolism of isolated rat ovaries.
Endocrinology 73 (1963), 81-91
- 7) Ahren K. & Rubinstein L. (1965)
Effects of follicle stimulating hormone on amino acid transport and protein biosynthesis in the isolated rat ovary.
Acta physiol. Scand. (64), 463-474
- 8) Armstrong, D.T. (1963)
Stimulation of glycolytic activity of rat corpus luteum tissue by luteinizing hormone.
Endocrinology 72 (1963), 908-913
- 9) Armstrong D.T. & Greep R.O. (1962)
Effect of gonadotrophic hormones on glucose metabolism by luteinized rat ovaries.
Endocrinology 70 (1962), 701-710
- 10) Armstrong D.T., Kilpatrick R. & Greep R.O. (1963)
In vivo and in vitro stimulation of glycolysis in prepubertal rat ovary by luteizing hormone.
Endocrinology 73 (1963), 165-169

- 11) Balogh Jr.K., Kidwell, W.R. & Wiest, W.G. (1966)
Histochemical localization of rat ovarian 20α -
hydroxysteroid dehydrogenase activity initiated by
gonadotrophic hormone administration.
Endocrinology 78 (1966), 75-81
- 12) Brandau, H. (1970)
Enzymaktivitäts-und Verteilungsmuster im Ratten-
ovar während der infantilen und juvenilen Ent-
wicklungsperiode.
Dtsch.Ges.Endokr. 16 (1970), 231-233
- 13) Brandau, H. & Luh, W. (1964)
Zur Lokalisation der innersekretorischen Funktion
des menschlichen Ovars.
Acta Endocrinol. 46 (1964), 580-596
- 14) Brandau, H. & Luh, W. (1964)
Enzymologische Untersuchungen am Corpus luteum gravi-
ditatis des Menschen (Verteilungs- und Aktivitäts-
muster von Enzymen der Embden Meyerhof Kette und des
Krebs-Zyklus.
Z. Geburtsh. und Gynäk. 162 (1964), 304-313
- 15) Caucig, H., Friedrich, F., Haber, R., & Golob, E. (1970)
Enzymuntersuchungen in Follikel- und Zystenflüssig-
keiten des menschlichen Ovars.
Wiener klinische Wochenschrift Jg. 82, Heft 42/43
(1970)
- 16) Chieffi, G. & Garfagna, M. (1960)
The alkaline phosphatase of the intestinal epithelium
of bufo vulgaris tadpoles during metamorphosis. The
influence of hydrocortisone on the epithelial
phosphatase in vitro.
Acta Embryologiae et Morphologiae Experimentalis 3
(1960), 213-220
- 17) Corbin, A. & Daniels, E.L. (1967)
Changes in concentration of female rat pituitary FSH
and stalk median eminence follicle stimulating hormone
releasing factor with age.
Neuroendocrinology 2 (1967), 304
- 18) McCormack, C.E. & Meyer, R.K. (1965)
Facilitative action of progestational compounds on
ovulation in PMS-treated immature rats.
Fert. Steril. 16 (1965), 384
- 19) Cox, R.P. & McLeod, C.M. (1961)
Hormonal induction of alkaline phosphatase in human
cells in tissue culture.
Nature Vol. 190 (April 1961), 85-87
- 20) Eckstein, B. (1962)
The development of the ovary of the rat.
Acta Endocr. (Kbh.) 41 (1962), 35-40

- 21) Eckstein, B. & Landsberg, R. (1963)
Effect of serum gonadotrophin on dehydrogenase of the citric acid cycle in the ovary of the rat.
Acta Endocr. (Kbh.) 42 (1963), 480-484
- 22) Eckstein, B. & Lavi, M. (1964)
Effect of gonadotrophin on ovarian and uterine transaminase activity.
Acta Endocr. 46 (1964), 440
- 23) Eckstein, B. & Shain, H. (1963)
The development of the ovary of the rat.
Acta Endocr. (Kbh.) 42 (1963), 389
- 24) Edgren, R.A. & Peterson, De Ann L. (1964)
The influence of adrenalectomy and corticoid replacement on ovarian compensatory hypertrophy in rats.
Acta Endocr. 47 (1964), 485
- 25) Fuhrmann, K. (1959)
Zbl. Gynäk. 81 (1959), 28 S. 1105
- 26) Gerlach, U. (1959)
Klin. Wschr. 37 (1959), 93
- 27) Glynn, E. (1911)
The adrenal cortex, its rests and tumours, its relation to other ductless glands and especially to sex.
Quart. J. Med. 5-157 (1911-1912)
- 28) Goldzieher, J.W. (1968)
The interplay of adrenocortical and ovarian function. in THE OVARY-ed. by Mack, H.C. and Charles C. Thomas Springfield 1968
- 29) Greep, R.O. (1961)
Sex and internal secretions
ed. by Young, W.C. Vol. 1 p. 244 (1961)
William & Wilkins, Baltimore Maryland
- 30) Greep, R.O., vanDyke, H.B. & Chow, B.F. (1942)
Gonadotrophins of swine pituitary - I. Various biological effects of purified thykaketrin (FSH) and pure metakentrin (ICSH).
Endocrinology 30 (1942), 635
- 31) Hagino, N. (1970)
Integration of "ACTH-adrenal" and "gonadotrophin ovary" systems during pubertal process.
Anatom. Rec. 166 (1970), 312
- 32) Hamberger, L. & Ahren, K. (1967)
Action of gonadotrophins on respiratory enzyme activity of isolated ovarian cells from the rat.
Acta Endocr. (Kbh.) 56 (Suppl. 119), (1967), 113

- 33) Jakobowitz, D. & Wallach, E.E. (1967)
Histochemical and chemical studies of the autonomic innervation of the ovary.
Endocrinology 81 (1967), 1132
- 34) McJefferies, W. (1966)
In OVULATION, ed. by. Greenblatt R.G.
Philadelphia, J.B. Lippincott. Comp. 1966
- 35) Karlson, P. (1961)
Deutsche Med. Wschr. 86 (1961), 668-674
- 36) McKerns, K.W. (1965)
Gonadotrophin regulation of the activities of dehydrogenase enzymes of the ovary.
Acta biochim. Biophys. 97 (1965), 542-550
- 37) McKerns, K.W. (1969)
Studies on the regulation of ovarian function by gonadotrophins.
in *The Gonads*, ed. by McKerns K.W.
Appleton-Century-Crofts New York 1969
- 38) Kidwell, W.R., Balogh Jr. K. & Wiest, W.G. (1966)
Effects of luteinizing hormones on glucose-6-phosphat and 20 α hydroxysteroid dehydrogenase activities in super-ovulated rat ovaries.
Endocrinology 79 (1966), 352
- 39) Kochakian, Ch.D. (1967)
Changes in alkaline phosphatase and arginase activities induced by glucocorticoids.
in *Wirkungsweise der Hormone*, ed. by Prof. P. Karlson
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1967)
- 40) König, P.A. & Stier, R. (1963)
Arch. Gynäk. 197 (1963) 561-572
- 41) König, P.A. (1965)
Über die Lokalisation von Enzymen in den endokrinen Formationen des menschlichen Ovariums.
Gynaecologica 159 (1965), 107-124
- 42) König, P.A. (1966)
Ferment-Lokalisation im Eierstock der Frau
Dtsch. Med. Wschr. Nr. 32 (1966), 12
- 43) König, P.A. (1967)
Enzymuntersuchungen des menschl. Eierstocks in Beziehung zu Morphologie, Funktion und Endokrinologie.
Mat. Med. Nordmark 19 (1967), 327-347
- 44) Labhsetwar, A.P. (1971)
Effects of ovariectomy and or adrenalectomy on viability of blastocysts in rats.
J. Reprod. Fert. 27 (1971), 391
- 45) Landers E. & Wagner (1974)
Acta. Endocrinologica 77 (1974) 498-501

- 46) Lauritzen, Ch. (1970)
Gonadotropine in der Präpubertät und Pubertät
Dtsch.Ges.Indokr. 16 (1970), 131-150
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- 47) Lawton, I.E. (1970)
Effect of ovarian and adrenal hormones on cyclic
LH release
Physiologist 13 (1970), 246
- 48) Litwack, G. & Singer S. (1972)
Effects of glucocorticoids on metabolic systems and
certain enzymes, p. 136
in Biochemical Action of Hormones ed.by. G. Litwack
Academic Press, New York and London 1972
- 49) Mills, H.C. & Means, A.R. (1972)
Sorbitol dehydrogenase (SDH) of rat testis: Changes
of activity during development, after hypophysectomy
and following gonadotrophic hormone administration
- 50) Moog, F. (1952)
The differentiation of enzymes in relation to the
functional activities of the developing embryo.
Ann. N.Y. Sci. 55 (1952), 57
- 51) Neal, P. & Baker, T.S. (1974)
Response of mouse ovaries in vivo and in organ culture
to pregnant mare's serum gonadotropin and human
chorionic gonadotropin. III. Effect of age.
J. Reprod. Fert. 32 (1974) 411
- 52) Neumann, H.O. & Stähler, E. (1974)
Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß der
Nebenniere auf Ultrastruktur und Funktion des Gelb-
körpers.
40. Tagung der dtsh. Gesellschaft für Gynäkologie und
Geburtshilfe (Wiesbaden Sept. 1974)
- 53) Nilsson, L. (1974)
Acute effects of gonadotrophins and prostaglandins on
the metabolism of isolated ovarian follicles from
PMSG- treated immature rats.
Acta endocrinologica 77 (1974), 540-558
- 54) Ober, K.F. (1950)
Die wechselnde Aktivität der alkalischen Phosphatase
im Ovar während des mensuellen Zyklus sowie im Myome-
trium unter der Geburt. - Eine histochem. Darstellung.
Klin. Wschr. 28 (1950), 9
- 55) Pasley, J.N. & Christian, J.J. (1972)
The effect of ACTH, group caging and adrenalectomy in
peromyscus leucopus with emphasis on suppression of
reproductive function.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 139 (1972), 981-925

- 56) Peron, F.G. & Caldwell B.V. (1968)
Biochem.Biophys. Acta 164 (1968), 396
- 57) Pette, D. & Bücher, Th. (1963)
Proportionskonstante Gruppen in Beziehung zur
Differenzierung der Enzymaktivitätsmuster von Skelett-
muskeln des Kaninchens.
erschienen in: Hoppe Seilers Zeitschrift der Physiolo-
gischen Chemie, Bd. 331, S. 180-195 (1963)
- 58) Price, D. & Oritz, O. (1944)
The relation of age to reactivity in the reproductive
system of the rat.
Endocrinology 34 (1944), 215
- 59) Raig, H., Brandau, H. & Luh W. (1968)
Enzymaktivitäten im Ovar androgensterilisierter und
normaler weiblicher Ratten.
Archiv für Gynäkologie 206 (1968), 154-180
- 60) Ramirez, V.D., & Sawyer, C.H. (1966)
Changes in hypothalamic luteinizing hormone releasing
factor (LHRF) in the female rat during puberty.
Endocrinology 78 (1966),
- 61) Rennels, G.E. (1966)
Observation on the ultrastructure of luteal cells from
PMS and PMS/HCG treated immature rats.
Endocrinology 79 (1966), 373
- 62) Schimassek, H. (1963)
Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels der isoliert
perfundierten Rattenleber.
Biochem.Z. 336 (1963), 460
- 63) Schuh, M., Bamberg, E. & Stöckl, W. (1973)
Enzymaktivitäten im Gelbkörper des Rindes.
Wien.tierärztl.Mschr. Jahrgang 60, Heft 2/3 (1973)
- 64) Selye, H. (1950)
Acta Inc. Montreal (1950)
Streß
- 65) Smith, R.C. & Davidson, J.M. (1968)
Role of oestrogen in the cerebral controle of puberty
in female rat.
Endocrinology 82 (1968), 100
- 66) Stähler, E. & Huch, A. (1971)
Untersuchungen an isoliert perfundierten Ovarien des
Rindes.
Arch. Gynäk. 211 (1971), 527-544
- 67) Stähler, E., Buchholz, R. & Huch, A. (1971)
Untersuchungen über den Energiestoffwechsel in isoliert
perfundierten Ovarien des Menschen.
Arch. Gynäk. 211 (1971), 576-582

- 68) Stähler, E., Buchholz, R., Spätling, L. (1972)
Bethge, H.D., Neumann, H.O.
Zur Wirkung von LH auf den Stoffwechsel isoliert
perfundierter menschlicher Ovarien.
Arch. Gynäk. 213 (1972), 162-175
- 69) Stark, D. (1965)
Lehrbuch der Embryologie
Thieme Verlag Stuttgart, 1965
- 70) Telko, M. (1971)
Ginek. Rd. 42 (1971), 4:451-6
- 71) VanTienhoven, A. (1961)
The effects of massive doses of corticotrophin and of
corticosterone on ovulation of the chicken.
Acta Endocr. 38 (1961), 407
- 72) Unbehaun, V., Jung, G. & Kidess, E. (1965)
Enzymuntersuchungen im Liquor folliculi.
Arch. für Gynäkologie Bd. 202, Kongressbericht 1965
- 73) Warburg, O. (1938)
Chemische Konstitutionen von Fermenten
erschienen in: Ergebnisse der Enzymforschung
Bd. 7, Zeile 210-245 (1938)
- 74) Valentine, W.N., Pollette, J.H., Hardin, E.B. (1954)
Beck, W.S. & Lawrence J.S.
Studies on leukocyte alkaline phosphatase activity:
Relation to stress and pituitary-adrenal activity.
J. Lab. & Clin. Med. 44 (1954), 219
- 75) Wiest, W.G., Kidwell, W.R. & Kirschbaum, Th. (1963)
Induction of rat ovarian 20 hydroxysteroid dehy-
drogenase activity by gonadotrophic hormone ad-
ministration.
Steroids 2 : 6 (1963) p.617
- 76) Wise, E.M. & Ball, E.G. (1964)
Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 52 (1964), 1255
- 77) Ying, S.Y. & Meyer, R.K. (1969)
Dose dependent pregnant mare's serum-induced ovulation
in immature rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 130 (1969), 40
- 78) Ying, S.Y. & Meyer, R.K. (1969)
Effects of steroids on neuropharmacologic blockage
of ovulation in pregnant mare's serum (PMS) primed
immature rats. Endocrinology 84: 1466, 1969
- 79) Ying, S.Y. & Meyer, R.K. (1972)
Metopirone and ovulation in immature rats.
Fertility & Sterility Vo. 23 No. 7 (1972)

- 80) Zarrow, M.X. & Quinn, D.L. (1963)
Superovulation in the immature rat following treatment with PMS alone and inhibition of PMS-induced ovulation.
J. Endocr. 26 (1963), 181-188
- 81) Zarrow, M.X., Sundaram, S.K. & Stob, M. (1965)
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 119 (1965), 331
- 82) Zarrow, M.X. & Wilson, E.D. (1961)
The influence of age on superovulation in the immature rat and mouse.
Endocrinology 69 (1961), 851

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. habil.
E. Stähler für die Erlaubnis zur Bearbeitung des
Themas und seine Unterstützung bei der Durchfüh-
rung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 12. Januar 1944 wurde ich in Gleiwitz als Tochter des Flugzeugprüfmeisters Johann Settnik und seiner Ehefrau Anna geboren. Während des Krieges kamen wir nach Leipzig, wo ich von September 1950 bis Juli 1961 die Grundschule und anschließend die Polytechnische Oberschule besuchte.

Im Juli 1961 wechselte ich meinen Wohnsitz von Leipzig in die Bundesrepublik Deutschland - Land Hessen-.

Von September 1961 bis März 1966 war ich in Frankfurt/Main im kaufmännischen Sektor tätig. Durch diese Berufstätigkeit und einen 14 monatigen Arbeits- und Sprachaufenthalt in London/England erwarb ich die Voraussetzungen für die Aufnahme an einem Lehrinstitut des 2. Bildungsweges.

Von April 1966 bis Juli 1968 besuchte ich das Hessenkolleg in Wetzlar. Nach der Reifeprüfung im Juli 1968 studierte ich ab WS 1968/69 bis WS 1974/75 an der Philipps-Universität Marburg/Lahn Humanmedizin und legte im November 1974 das medizinische Staatsexamen ab.

Während der letzten klinischen Semester arbeitete ich im Labor der Frauenklinik Marburg unter der Leitung von Herrn Dr. med.habil. E. Stähler am experimentellen Teil meiner Dissertation.

Vom 1. Februar 1975 bis zum 30. September 1975 war ich als Medizinalassistentin am Bürgerhospital Friedberg/Hessen in den Abteilungen Anästhesie und Chirurgie beschäftigt. Seit dem 1. Oktober 1975 arbeite ich auf der Inneren Abteilung der Herz-und Kreislaufrlinik Wetterau in Bad Nauheim als Medizinalassistentin. Seit April 1973 bin ich mit dem Studienrat Hans Kastner verheiratet und führe seitdem den Familiennamen Kastner - Settnik.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten:

Amon, Bommer, Buchholz, Daume, Dimroth, Dombrowki,
Engelhardt, Exner, Friedrich, Gans, Graul, Hammelmann,
Hensel, Hering, Hildebrandt, Hört, Jacob, Karlson,
Keil, Klaus, Kleinsasser, Koecke, Linneweh, Maroske,
Martini, Nesswetha, Nöth, Petry, Pots, Reim, Rohen,
Schleyer, W. Schmidt, Schmitz-Moormann, Scriba, Seidel,
Siegert, Straub, Uhlirzik, Walcher, Wehrmeyer.

